

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ZUSAMMENHANG
ZWISCHEN SPEICHELAMYLASE UND KARIESBEFALL

von

ULRICH KRAUS

1968

Aus der Konservierenden Abteilung (Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl)
der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. F. Jung)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ZUSAMMENHANG
ZWISCHEN SPEICHELAMYLASE UND KARIESBEFALL

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

ULRICH KRAUS

aus Darmstadt

MAINZ 1968

Dekan: Professor Dr. Dr. Thews
Referent: Professor Dr. Dr. P. Riethel
Korreferent: Professor Dr. Dr. W. Ketterl
Tag der mündlichen Prüfung: 26. Oktober 1968



Gesamtherstellung:

Ditters Bürodienst Mainz

MEINEN LIEBEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
1. Physiologische Chemie der α -Amylase	3
2. Physiologische Bedeutung des Speichels und der Amylase ..	4
3. Die Amylase und ihre Wechselbeziehung zum Milieu der Mundhöhle	5
a) Elektrolyte	5
b) pH	6
c) Temperatur	7
4. Überblick über die Kariesätiologie	7
a) Plaques	8
b) Bakterien	9
c) Kohlenhydrate	10
5. Beeinfluß die Amylase den kariösen Prozeß?	10
a) Plaques	10
b) Bakterien	11
c) Kohlenhydrate	12
6. Amylase als Kariesprophylaktikum	17
7. Ziel der Versuche	19
8. Methodik der Amylaseaktivitätsbestimmung	19
a) Probanden	19
b) Speichelentnahme	20
c) Bisher angewandte Methoden	21
d) WILLSTÄTTER-Methode	22
e) Meßergebnisse der Amylasebestimmung	23

	Seite
9. Methodik der Kariesbestimmung	25
a) Klinische Untersuchungen	25
b) Bisher angewandte Methoden	25
c) Auswahl der Methodik	27
d) Ergebnisse der Kariesbestimmung	28
10. Korrelationsrechnung von meßbaren Merkmalen	29
11. Resultate der Korrelationsstatistischen Auswertung	30
12. Diskussion der Ergebnisse	31
13. Zusammenfassung	32
14. Literaturverzeichnis	37

EINLEITUNG

1831 entdeckte E.F.LEUCHS eine besondere Eigenschaft des menschlichen Speichels, die auf der Verflüssigung von Stärkekleister beruht.

1833 stellten M.M.PAYEN und PERSON aus Malz eine feste amorphe Substanz her, die rasch die Hüllen von gequollenen Stärkekörnern trennte und deswegen Diastase (von $\delta\iota\acute{\alpha}\sigma\tau\alpha\iota\varsigma$ = Spaltung) genannt wurde. Dieses Ferment ist synonym mit Ptyalin (von $\pi\tau\acute{\upsilon}\epsilon\lambda\omicron\varsigma$ = Speichel) und chemisch eine α -Amylase.

Im Pankreas des Menschen wird das gleiche Ferment gebildet.

Außer beim Menschen findet man die α -Amylase bei Herbivoren und Omnivoren, nicht aber bei Karnivoren, da sie bei letzteren nicht benötigt wird.

Für Synthese und Sekretion in die Mundhöhle sorgt in der Hauptsache die rein seröse Parotis. Post partum konnte die Amylase nur in dieser Drüse nachgewiesen werden; nach einigen Monaten erfolgt aber auch eine Sekretion über die Submandibularis und Sublingualis, allerdings in weitaus geringerer Konzentration (vgl.hierzu: H.EGGERS-LURA 1949, Th.LAMMERS 1956, F.LEUTHART 1963, REIN-SCHNEIDER 1964).

Die Amylase des Speichels ist das erste wichtige in wirkungsvoller Konzentration vorhandene Ferment des Verdauungstrakts; es spaltet die hochmolekulare Stärke rasch in niedermolekulare Substanzen bis zur Maltose.

Während die physiologische und physiologisch-chemische Natur des Speichels und der Speichelamylase weitgehend geklärt ist, ist die Bedeutung der Amylase innerhalb des kariösen Prozesses immer noch umstritten.

Als erster hat sich B.PURJESZ (1913) mit diesem Problem auseinandergesetzt. Als Maß für die Aktivität der Amylase berechnete er die aus Stärke entstandene Zuckermenge und stellte fest, daß bei den Versuchspersonen, die gesunde Zähne hatten, diese Zuckermenge im allgemeinen größer war als bei kariesanfälligen.

M.MICHEL (1915) ging dagegen von der Beobachtung aus, daß bei einer Reihe von Tieren, die keine Speichelamylase produzieren, Immunität gegenüber Karies gefunden wurde. Er zog daraus den Schluß, daß Karies nur dort entstehen kann, wo die Speichelamylase ihre saccharogene Wirkung entfaltet.

Dieser Anschauung, die eine positive Wirkung der Amylase auf den kariösen Prozeß beinhaltet, steht die von H.P.PICKERILL (1926) gegenüber, daß die Speichelamylase die Zähne vor kariösem Zerfall schützt. Seine Hypothese unterstützte er durch die Beobachtung, daß der Amylase-Index der Maoris, die Immunität gegenüber Karies besitzen, mehr als doppelt so groß ist wie der von Europäern.

H.PRINZ (1918), K.ÖLSNER (1930) und R.B.HUBBEL (1933) fanden dagegen keinen Zusammenhang zwischen Karies und Amylase.

Die ersten Versuche größeren Umfanges machte C.D.M.DAY (1934). Bei dem Vergleich von kariesimmunen und kariesanfälligen Gruppen stellte er fest, daß der Mittelwert der Amylaseaktivität bei den Immunen um 23% größer war als bei den Anfälligen. Daneben fand er jedoch auch eine beträchtliche individuelle Schwankung innerhalb beider Gruppen, so daß er zwar die Existenz einer Beziehung zwischen Karies und Amylase nicht leugnete, der Amylase aber nur eine untergeordnete Rolle im kariösen Prozeß beimaß.

F.BARANY kam 1947 zu dem gleichen Ergebnis.

H.J.FLORESTANO, J.E.FABER und L.H.JAMES (1941) sowie N.C.TURNER und E.M.CRANE (1944) haben die Überlegungen von M.MICHEL bestätigt: Die größere Amylaseaktivität war verbunden mit einem stärkeren Kariesbefall.

O.BERGHEIM und W.F.BARNFIELD (1945), W.C.HESS und B.T.SMITH (1948) Y.ERICSSON, I.HELLSTRÖM, B.JARED und L.STJERNSTRÖM (1954) sowie F.BRAMSTED (1964) wiederum fanden keine Korrelation zwischen Amylase und Karies.

1964 stellte N.C.TURNER auf Grund seiner Untersuchungen fest, daß keine Karies entstehen kann, wenn die Amylase in ihrer Wirkung gehemmt wird. Die Hemmung der Amylase soll durch die noch unbekannte "Amylase-Inhibitor-Action" von Weizenstärke und anderen Nahrungsmitteln erfolgen.

Diese sich widersprechenden Untersuchungsergebnisse gaben uns Veranlassung, das Thema "Karies und Amylase" erneut zu behandeln.

1. PHYSIOLOGISCHE CHEMIE DER α -AMYLASE

Die α -Amylase gehört zur Gruppe der Karbohydrasen und löst C-O-Bindungen unter Wasseraufnahme (F.LEUTHART, 1963).

Wie die meisten Enzyme ist auch die α -Amylase streng wirkungsspezifisch: Sie greift nur die Amylose und das Amylopektin der Stärke sowie das Glykogen an, welches in seinem chemischen Aufbau dem Amylopektin weitgehend entspricht.

Neben der α -Amylase, die im Speichel und Pankreas vorkommt, gibt es auch eine im Malz vorkommende α -Amylase, die ebenfalls Stärke angreift (vgl. hierzu: K.H.MEYER, 1951, P.KARLSON, 1964 und H.AEBI, 1965). Hier soll nur der Enzym-Substratmechanismus der α -Amylase und der Stärke untersucht werden.

"Die α -Amylase greift beliebige 1,4 Bindungen im Inneren der Polysaccharidkette des Stärkemoleküls an und zerlegt es auf diese Weise rasch in kleinere Bruchstücke. Da sie im Innern und nicht am Ende einer Kette angreift, wird sie auch als Endoamylase bezeichnet" (F.LEUTHART).

Nach K.MYRBÄCK (1953) werden die als Zwischenprodukte entstehenden Dextrine mit abnehmender Kettenlänge immer langsamer gespalten, so daß die Freisetzung reduzierender Gruppen anfangs sehr schnell verläuft, bis zu dem Punkt, wo etwa 1/6 der Glukosidbindungen gelöst sind. Die weitere Spaltung verläuft bedeutend langsamer.

Nach H.EGGERS-LURA (1949) muß man bei der Reaktion mit einer gewissen Inaktivierung durch die eigenen Reaktionsprodukte rechnen; dabei sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit bei Konzentrationen von 6% Maltose bis unter die Hälfte.

Als Endprodukte des Stärkeabbaus findet man hauptsächlich Maltose, aber auch höhermolekulare Abbauprodukte, die Dextrine, und in kleinen Mengen Glukose. Diese Glukose entsteht nicht durch Hydrolyse der Maltose, denn diese wird durch α -Amylase nicht angegriffen, sondern durch Spaltung von Maltotriose (P.KARLSON und F.LEUTHART).

Diese Tatsache muß besonders hervorgehoben werden, da das Vorkommen von Glukose unter den Hydrolyseprodukten der Stärke fälschlicherweise zu der Annahme geführt hat, daß im Sekret der Speicheldrüsen Maltase vorhanden sei.

Falls in der Mundhöhle nach Stärkezufuhr tatsächlich größere Mengen Glukose gefunden werden, so sind diese in der Hauptsache auf die Aktivität von enzymbildenden Bakterien zurückzuführen (H.EGGERS-LURA).

Im größeren Rahmen wird die Maltose erst im Darm durch eine α -Glucosidase, die Maltase, zu Glucose aufgespalten und damit die Verdauung zu Ende geführt (P.KARLSON).

Der Abbau der Stärke vollzieht sich in drei Abschnitten des Verdauungstraktes: in der Mundhöhle, im Magen und im Darm. "In der Mundhöhle ist die Kohlenhydratspaltung trotz der sehr wirksamen Speichelamylase gering, da die Speisen hier zu kurze Zeit - meist weniger als 1 min - verweilen. Sie läuft jedoch gewöhnlich im Magen noch weiter, da die Säuerung, bei der die Amylase-wirkung aufhört, in wandfernen Teilen des Speisebreies oft erst nach Stunden erreicht wird." (H.V.LANDOIS-ROSEMAN, 1962.)

Die Hauptmenge der Stärke wird jedoch erst im Darm unter der Wirkung der Pankreasamylase hydrolysiert.

Chemophysikalisch äußert sich die Einwirkung der Amylase auf die Stärke in einem raschen Verschwinden der Jodreaktion und einer ebenfalls raschen Verflüssigung von Kleister (F.LEUTHART).

2. PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG DES SPEICHEL UND DER AMYLASE

Die Bildung des Speichels, die über drei Drüsenpaare erfolgt, nämlich Submandibularis, Sublingualis und Parotis, stellt eine aktive Leistung des Organismus dar. Die Hypotonie des Speichels gegenüber Blut beweist, daß die Speichelbildung nicht einfach auf einer Filtration aus dem Blut beruht (E.SCHÜTZ, 1963).

Die Sekretion des Speichels erfolgt nervös-reflektorisch. Die Variation der Speichelzusammensetzung erfolgt durch unbedingte Reflexe, die schon angeboren vorliegen und die vor allem von den Geschmacksrezeptoren der Zunge ausgelöst werden (REIN-SCHNEIDER, 1964).

Während die Submandibularis und Sublingualis mehr schleimartigen mukösen Speichel produzieren und wenig Amylase, ist das Sekret der Parotis dünnflüssig serös und enthält beim Menschen und verschiedenen Tierarten reichlich Amylase die von REIN-SCHNEIDER als der wichtigste organische Bestandteil im Speichel des Menschen bezeichnet wird.

Die Menge und die Zusammensetzung des Speichels hängen von der Beschaffenheit der Nahrung ab.

Nach C.H.NEILSON und O.P.TERRY (1906), H.PRINZ (1918) und H.PICKERILL (1924) ist auch die Amylase-Konzentration im Speichel abhängig von der Art der Nahrung. Der Grund dafür liegt in einer mehr oder minder starken Stimulation der Parotis durch die Nahrung.

Wie wir gesehen haben, besteht eine wichtige Funktion des amylasehaltigen Speichels in der Hydrolyse der Stärke. Der Stärkeabbau durch die Speichelamylase geht zur Hauptsache im Magen vor sich und dauert so lange, bis die Speisen vom sauren Magensaft durchtränkt sind und damit die Amylase durch die stark saure Reaktion inaktiviert ist.

Nach F.LEUTHART (1963) besteht die weitaus wichtigere, rein mechanische Funktion des Speichels in der gründlichen Durchfeuchtung trockener Nahrung während des Kauens. Große Partikel werden dabei von einer Schleimschicht umhüllt, welche sie gleitfähig macht, kleinere Partikel werden weggespült und damit ein Kleben der Speisen an Zähnen, Gaumen und Zunge verhindert.

Tagsüber zwischen den Mahlzeiten schützt ein kontinuierlicher Fluß von Speichel - ca. 20 ml pro Stunde - die Mundhöhle vor Austrocknung; nur im Schlaf hört diese Ruhesekretion auf (H.V.LANDOIS-ROSEMAN, 1962).

Die am Tag produzierte Speichelmenge liegt zwischen 1 und 1,5 l (REIN-SCHNEIDER).

3. DIE AMYLASE UND IHRE WECHSELBEZIEHUNG ZUM MILIEU DER MUNDHÖHLE

a) Elektrolyte

Die tierischen Amylasen können durch Salze aktiviert werden im Gegensatz zu den pflanzlichen wie der im Malz vorkommenden β -Amylase (R.WILL-STÄTTER, 1923).

Die Aktivierung erfolgt in Anwesenheit von Chlor- und bestimmten anderen Anionen, während Acetat-, Phosphat- und Sulfat-Anionen keine so ausgesprochene Aktivierung hervorrufen können. In Gegenwart des Chlorions kommen Höchstwerte an Amylaseaktivität zustande, die sich durch gleichzeitige Anwesenheit anderer Ionen nicht mehr steigern lassen (L.MICHAELIS und H.PECHSTEIN, 1914).

Nach R. WILLSTÄTTER genügen schon 0,03% NaCl, um eine optimale Aktivität der Amylase zu gewährleisten. Dabei sind ein bestimmtes pH und Phosphatpuffer nötig. Da nach H. TÜRKHEIM (1925) der durchschnittliche NaCl-Gehalt des Speichels 0,109% beträgt, scheinen für die Amylase in der Mundhöhle günstige Bedingungen vorzuliegen.

b) pH

Die Elektrolyte sind nicht nur imstande, die Aktivität des Enzyms zu verändern, sondern auch sein pH-Optimum zu verschieben.

Während möglichst salzfreie Enzymlösungen bei pH₆ optimal wirken, liegt das Optimum in Anwesenheit von Chlorid-Bromid und Jodid-Ionen bei pH 6,9 - 7,0 und in Anwesenheit von Nitrat- und Chlorationen etwa bei pH 7,2 (K. MYRBÄCK, 1953).

Für die Pankreasamylase liegen genaue Bestimmungen des Wirkungsoptimums von H.C. SHERMANN, A.W. THOMAS und M.W. BALDWIN (1918) vor. Die Messungen, die stets unter Zusatz von NaCl und Phosphatpuffer durchgeführt wurden, ergaben optimale Acidität zwischen 6,7 und 7,0.

Nach K. KÖNIG (1966) bewegt sich das pH des Speichels zwischen 6,0 und 7,5 nur ein Drittel knapp unter dem Neutralpunkt und ist in diesem Rahmen sehr konstant. Der Speichel selbst wird also nie so sauer, daß es zu einer völligen Inaktivierung der Amylase kommen könnte, die bei einem pH von 5 eintritt. Demnach ist eine Gefährdung der Amylaseaktivität zwar nicht durch den Speichel selbst zu erwarten, der durch sein wohl ausgewogenes Puffersystem die Konstanz des pH aufrecht erhält, dafür aber an Stellen, die Ort und Ursprung des Kariesgeschehens darstellen, den Plaques. Vor allem in der Tiefe der Plaques steigt die Wasserstoffionenkonzentration als Resultat des bakteriellen Kohlenhydratabbaus stark an, so daß die Wirkung der Amylase an diesen Stellen vollkommen blockiert sein kann (vgl. hierzu: A. STRALFORS, 1948).

Dem Einflußbereich der Amylase scheinen also auch Grenzen gesetzt, obwohl im normalen Mundspeichel bei einem durchschnittlichen pH von 6,8 und einem für die Aktivierung ausreichenden NaCl-Gehalt günstige Bedingungen für die Speichelamylase vorliegen.

Das Speichel-pH kann nicht nur bei jedem Individuum verschiedene Werte aufweisen, sondern auch täglichen Schwankungen unterworfen sein. Tagsüber und vor allem während des Essens liegt das pH mehr im basischen Bereich und nachts mehr im sauren Bereich (HENDERSON und MILLET, 1927, H. SCHIEFER-DECKER, 1937).

Ebenso wie das pH ist auch die Speichelamylase täglich Schwankungen unterworfen (L.HOFBAUER, 1897, R.H.CHITTENDEN und A.N.RICHARDS, 1898). Dabei ist eine Abhängigkeit der Amylaseaktivität vom pH durch I.H.SULLIVAN und C.A.STORVICK (1950) nachgewiesen worden. Nach J.T.GORE (1938) ist die Amylaseaktivität während der Mahlzeiten am größten und sinkt danach wieder ab, wobei parallel zum pH die niedrigsten Werte nachts gefunden werden.

c) Temperatur

Die Temperatur der Mundhöhle entspricht etwa der der Körpertemperatur und bildet demnach eine weitere Voraussetzung für die optimale Wirksamkeit der Amylase.

Bei niedrigeren Temperaturen wird die Reaktionsgeschwindigkeit der Stärkehydrolyse durch Amylase stark herabgesetzt: N.C.TURNER und C.E.GROWELL (1952) haben gezeigt, daß bei bestimmter Amylasekonzentration die Stärkehydrolysezeit bei einer Temperatur von 10° C 200 min und bei einer Temperatur von 32° C weniger als 6 min beträgt.

Bei Temperaturen über 40 - 50° C setzt nach F.LEUTHART (1963) die Denaturierung des Fermentproteins ein.

Beim Gefrierpunkt des Wassers steht die Fermentreaktion nahezu still.

4. ÜBERBLICK ÜBER DIE KARIESÄTIOLOGIE

"Die Karies der Zähne wird nicht durch einen spezifischen Erreger verursacht, sondern wird durch das multikausale Zusammenwirken verschiedener Faktoren bestimmt und findet in keinem Typus allgemeiner pathologischer Vorgänge Entsprechungen" (K.KÖNIG, 1966).

Die klassische Kariestheorie von W.D.MILLER (1889) als chemoparasitärer Prozeß ist in den wesentlichen Punkten noch heute gültig. In seinen Ausführungen heißt es: "Die Zerstörung des Schmelzes, wie sie bei der Karies stattfindet, ist als ein wesentlich parasito-chemischer Prozeß aufzufassen. Die Lockerung der Schmelzprismen wird durch Säuren bedingt, über deren Ursprung kein Zweifel mehr herrschen kann; sie entstehen im Munde durch Gärung von Kohlenhydraten. Die Pilze sind an dem Prozeß direkt beteiligt, insofern sie zwischen die losen Schmelzprismen hineinwuchern, dieselben vielleicht weiter auseinanderreiben und den Rest des organischen Stoffes zerstören. Eine direkte

Wirkung auf den normalen Schmelz üben die Spaltpilze nicht aus. Die Disso-
lution des Schmelzes ist also als eine indirekte, durch die von ihnen gebildeten
Säuren hervorgerufene Wirkung der Pilze zu betrachten."

Nach W.D.MILLER gibt es zwei Grundvoraussetzungen, ohne die ein kariöser
Prozeß nicht denkbar ist: Kohlenhydrate und Bakterien. Damit ist im Prinzip
alles gesagt. Dennoch wird ein dritter Faktor genannt werden müssen, der zwar
im Hinblick auf die Theorie der Kariogenese nichts wesentlich Neues darstellt,
aber zur Aufhellung des Problems heute unerläßlich geworden ist, nämlich die
Plaques.

Es soll nun zum weiteren Verständnis ein kurzer Abriß über die drei wichtigsten
Faktoren in der Kariesätiologie gegeben werden.

a) Plaques

Die Bedeutung der Plaques wurde zuerst von J.C.WILLIAMS (1897) und
G.V.BLACK (1895, 1914) erkannt.

J.C.WILLIAMS zeigte an unentkalkten feinen Schliffen kariöser Zähne, daß
der Schmelzoberfläche Beläge anhaften, die aus filzartig miteinander verflech-
tenen säurebildenden Mikroorganismen bestanden. Diese Pilzrasen fand er so
dicht aufgelagert, daß ihm ein "Angriff auf den Schmelz durch andere als die
in den Belägen selbst unmittelbar auf der Schmelzoberfläche gebildeten Säuren
unwahrscheinlich" schien. Die dicke und leimartige Beschaffenheit der Bakte-
rienbeläge war nach Ansicht J.C.WILLIAMS der Grund, warum die gebildeten
Säuren nicht durch den Speichel ausgewaschen werden, sondern im Sinne einer
Entkalkung auf den Zahn wirken konnten.

G.V.BLACK (1914) stellte einschränkend fest, daß nicht alle Beläge kariogen
sind. Gestützt auf die Beobachtung völliger Kariesfreiheit trotz starker Belag-
bildung sah er solche Beläge als nicht kariesverursachend an, die "für Wasser
leicht durchgängig sind und daher vor der Auslaugung durch den Speichel nicht
schützen können" und solche, die nur aus "harmlosen Mikroorganismen" be-
stehen.

Dennoch vertraten J.C.WILLIAMS und G.V.BLACK übereinstimmend die Mei-
nung, daß dort, wo die Plaques gegen Auslaugung durch den Speichel isoliert
sind, der kariöse Prozeß beginnt.

Die Entstehung der Plaques stellt sich E.KIRK (1909) so vor, daß die Milch-
säure Speichelmucide ausfällt und dadurch die Bakterien eingehüllt, zusam-
mengeballt und als Plaques auf der Zahnoberfläche fixiert werden.

Die Plaques selbst bestehen zu über 70% aus acidogenen und säurefesten Mikroorganismen. Die Dicke und die bakterielle Zusammensetzung sind abhängig von den örtlichen Verhältnissen, dem Speichelzutritt und der Möglichkeit der Nahrungsretention (nach K.C.WINKLER und O.BACKER DIRKS, 1958).

Die Bildung der Plaques wird an den Stellen begünstigt, die der mechanischen Selbstreinigung durch Zunge und Speichel beim Kauakt am wenigsten zugänglich sind: den unter sich gehenden gingivalen Dritteln der buccalen und lingualen Glattflächen, den Fissuren und den Interdenträumen (K.KÖNIG).

Diese Stellen sind auch als Prädilektionsstellen für Karies bekannt.

b) Bakterien

Bei F.J.ORLAND und seinen Mitarbeitern (1954-1955) fand die klassische Kariestheorie von W.D.MILLER erneut eine Bestätigung.

Er konnte im Tierversuch beweisen, daß es ohne Bakterie keine Karies gibt. Er fütterte keimfreie Ratten mit der gleichen kariogenen Diät, die bei normal keimbesiedelten Kontrolltieren kariösen Befall hervorrief, und stellte fest, daß diese Tiere kariesimmun blieben.

In weiteren Versuchen wurden an ursprünglich keimfreien Laboratoriumsratten Einzelbesiedlungen mit bestimmten Bakterienstämmen vorgenommen, um herauszufinden, welche Bakterien kariöse Läsionen hervorrufen können und welche nicht. Danach rufen kariöse Läsionen hervor:

- (a) Enterokokken vom Streptokokkus faecalis-Typ
- (b) Mikroaerophile hämolytische Streptokokken
- (c) Lactobazillus fermenti - nur bedingt

Letzterer ist zwar überall dort zu finden, wo floride kariöse Herde sind, erzeugt aber in Reinkulturen keine Karies, sondern wird nur im Synergismus mit den Streptokokken wirksam. Man hat ihn deshalb auch als hetero-fermentativen Typus bezeichnet. Während die Streptokokken sich bereits im neutralen Bereich vermehren, Kohlenhydrate abbauen und dadurch das Milieu ansäuern, wachsen die Lactobazillen bei einem pH um 7 kaum und entfalten ihre Aktivität erst in einem pH-Bereich von 5. Die Streptokokken schaffen damit erst die Wachstumsbedingungen für die Lactobazillen.

Dafür spricht auch die von K.C.WINKLER und O.BACKER DIRKS festgestellte Tatsache, daß die Zahl der Lactobazillen in einer Plaque auf einer nicht kariösen Zahnpartie niedrig ist: 1 Lactobazillus auf 100 000 Kokken.

Nach F.J.ORLAND und Mitarbeitern sollen in kariesfreien Mundhöhlen überhaupt keine Lactobazillen anzutreffen sein.

c) Kohlenhydrate

Nach W.D.MILLER kann man "keine Karies erwarten, wenn die zur Säurebildung erforderlichen Kohlenhydrate fehlen."

"Die acidogenen Mundbakterien finden besonders günstige Bedingungen bei reichlicher oraler Zufuhr von Kohlenhydraten, speziell solchen, die leicht verfügbar sind, wie Mono- und Disaccharide. Wegen ihrer guten Löslichkeit stellen diese Zucker in der Hauptsache für diejenigen Bakterien ein Substrat dar, die in Zahnbelägen gegen eine rasche Elimination ihrer Nährlösung durch den Speichel geschützt sind" (K.KÖNIG).

Ebenso können Polysaccharide und Stärke infolge enzymatischer Spaltung durch Amylase als Glucoselieferanten angesehen werden. Dabei erfolgt zwar die Verwertung durch die Mundbakterien nicht so schnell wie bei direkter oraler Zufuhr von Monosacchariden, dafür aber über einen längeren Zeitraum.

Der kariöse Prozeß stellt sich, kurz zusammengefaßt, folgendermaßen dar:

Die Zähne sind besonders an den Stellen, die der Selbstreinigung beim Kauakt nicht zugänglich sind, von einer hauptsächlich aus Mikroorganismen bestehenden Plaque überzogen. Kohlenhydrate gelangen in die Plaque, wo sie im Rahmen des Bakterienstoffwechsels zu Gärungssäuren abgebaut werden, die den Zahn langsam und schrittweise entkalken.

5. BEEINFLUSST DIE AMYLASE DEN KARIÖSEN PROZESS?

In diesem Abschnitt soll die Frage genauer untersucht werden, ob die Amylase die den kariösen Prozeß bestimmenden Hauptfaktoren, wie Plaques, Bakterien und Kohlenhydrate, beeinflussen kann.

a) Plaques

Es liegen aus neuerer Zeit einige Arbeiten vor, die dafür sprechen, daß eine direkte Einwirkung der Amylase auf Beläge stattfindet. Auf dieses Problem soll jedoch erst im nächsten Abschnitt "Amylase als Kariesprophylaktikum" näher eingegangen werden.

b) Bakterien

L.S.FOSDICK und G.W.RAPP (1944) sowie M.MUER (1958) haben in ihren Untersuchungen eine Beeinflussung von Säureproduktion und Bakterien im Speichel durch Amylase festgestellt.

Nach L.S.FOSDICK und G.W.RAPP bewirkt die Pankreasamylase eine erhebliche Erhöhung der Säurebildung im Speichel. Die Autoren stellten fest, daß mit ansteigendem Amylasewert auch die Säureproduktion im Speichel ansteigt. Bei den In-vitro-Versuchen bestand das Reaktionsgemisch aus Speichel mit verschiedenen Amylasekonzentrationen sowie aus Glucose und pulverisiertem Schmelz, wobei die zwei letztgenannten Substanzen in jeweils gleicher Menge hinzugefügt wurden. Dabei ergab sich, daß der Ca-Ionengehalt des Speichels, der vor Beginn der Reaktion bestimmt wurde, nach Ablauf der Reaktion angestiegen war. Es mußte also eine vermehrte Säureproduktion, verbunden mit einem verstärkten Angriff der Säure auf den Schmelz, stattgefunden haben. Eine Erklärung für diesen Vorgang bleiben uns die beiden Autoren schuldig.

Die Amylase kann infolge ihrer Spezifität weder Glucose zu Säure abbauen noch direkt den Schmelz angreifen. Möglicherweise kam es infolge erhöhter Amylasezufuhr zur Auflösung von bakterienhaltigen Belägen in der Speichelsuspension und damit zu einer verstärkten Aktivität von säureproduzierenden Bakterien.

Da dieser In-vitro-Versuch weit davon entfernt ist, die natürlichen Verhältnisse in der Mundhöhle widerzuspiegeln, darf man ihm keine allzu große Bedeutung beimessen.

Bei den Versuchen von M.MUER (1958) sollte der Einfluß der Amylase auf Bakterienkulturen, besonders auf Acidophilus-Bakterien, geprüft werden.

Nach 48-stündiger Bebrütung zeigten die Bakterien in einer amyrase- und stärkehaltigen Kultur Wachstum, während das Wachstum in einer amyrase-freien Kultur unterblieb.

Dieses Phänomen kann ohne weiteres durch die Maltose- und Glucoseproduktion der Amylase aus der Stärke erklärt werden; das Wachstum der acidophilen Bakterien erfolgt nur in zuckerhaltigen Nährmedien.

Der Autor kommt nun bei einem weiteren Versuch zu dem Ergebnis, "daß Amylase in höherer Konzentration das Wachstum der kariogenen Bakterien zu unterbinden vermag." Demnach ist nur die Konzentration der Amylase dafür ausschlaggebend, ob das Wachstum dieser Bakterien gefördert oder gehemmt

wird. Während bei dem ersten Versuch in eine stärkehaltige Bouillon Amylase gegeben wurde und sich sekundär Glucose bilden konnte, wurde im zweiten Versuch primär eine zuckerhaltige Bouillon mit verschiedener Amylasekonzentration verwendet. Da die Amylase auf Glucose keinen Einfluß hat, konnte in letzterem Versuch nur eine direkte hemmende Wirkung der Amylase auf die Bakterien stattgefunden haben.

Bei der Amylase handelte es sich nicht um reine Amylase, sondern um ein von der Firma Röhm & Haas (Darmstadt) hergestelltes Präparat in Tabletten zu je 0,5 g. Jede Tablette enthielt "10% eines Enzymfällungskonzentrates mit vorwiegend amylolytischer Wirksamkeit".

Es darf angenommen werden, daß neben der Amylase auch noch andere nicht näher genannte Substanzen eine Rolle gespielt haben. Außerdem erhebt sich die Frage, ob die Voraussetzungen für einen normalen Wirkungseffekt des Amylasepräparates erfüllt waren. Das Präparat wurde in Aqua dest. aufgelöst, ohne daß einige wichtige Milieugegebenheiten geschaffen worden wären, wie Temp. von 37° C, pH von 6,8 und NaCl-Zusatz.

Da diese beiden Versuche Unklarheiten aufweisen und ähnliche Versuche bisher nicht bekannt wurden, kann eine endgültige Antwort auf die Frage nach einer direkten Beeinflussung der Bakterien durch Amylase nicht gegeben werden.

c) Kohlenhydrate

Nach F. LEUTHART (1963) zerfallen die Kohlenhydrate in zwei Gruppen:

- (1) die einfachen Kohlenhydrate oder Monosaccharide, auch Zucker genannt,
- (2) die zusammengesetzten Kohlenhydrate, welche aus den ersteren durch Zusammenlagerung unter Wasseraustritt entstehen und dementsprechend durch Hydrolyse in Monosaccharide zerlegt werden können.

Je nachdem, wieviel Zuckermoleküle miteinander verknüpft sind, unterscheidet man Disaccharide, Oligosaccharide und Polysaccharide. Letztere besitzen ein hohes Molekulargewicht und sind infolgedessen schwerer löslich als die niedermolekularen Monosaccharide und Disaccharide.

Im folgenden soll besprochen werden, inwieweit die Amylase auf die Kohlenhydrate in der Mundhöhle einwirkt.

Es ist selbstverständlich, daß die Amylase einen akuten kariösen Prozeß nicht mehr aufhalten kann, aber es wäre theoretisch möglich, daß die Amylase bei den Vorgängen eine Rolle spielt, die den kariösen Prozeß einleiten.

Der kariöse Prozeß spielt sich in der Hauptsache an der Grenzschicht zwischen Plaque und Schmelz ab. Die Bakterien in der Plaque benötigen für ihren Stoffwechsel Kohlenhydrate, die ihnen ständig von außen zugeführt werden müssen (J.C.WILLIAMS, 1897 und G.V.BLACK, 1914). Der kariöse Prozeß beginnt also mit der Substratzulieferung an die acidogenen Bakterien.

Obwohl auch Mundbakterien Polysaccharide hydrolysieren können (vgl. hierzu K.KÖNIG, 1966), ist es einleuchtend, daß die Zufuhr niedermolekularer Kohlenhydrate schneller zur Säureproduktion durch die Bakterien führt, als dies über den Umweg des Stärkeabbaus durch Bakterienenzyme geschehen kann.

So kommt man leicht zu dem Schluß, daß mehr die Monosaccharide als die Stärke den kariösen Zerfall des Zahnes begünstigen. Diese Annahme ist zum Teil berechtigt, zum Teil unberechtigt. Denn wie wir sehen werden, ist nicht so sehr die Frage nach der Geschwindigkeit der Substratumsetzung durch die Bakterien entscheidend als vielmehr die Frage nach der Verweildauer des Substrates in der Mundhöhle.

Glucoselösungen diffundieren infolge ihrer guten Löslichkeit sehr schnell in die Plaques, werden aber durch die mit dem Reiz der Nahrungsaufnahme verbundene verstärkte Sekretion des Speichels eliminiert; außerdem wird durch die neutralisierende Kraft des Speichels die Säurebildung erschwert (vgl. hierzu: G.N.JENKINS und I.KLEINBERG, 1956).

Säuremessungen in Plaques haben gezeigt, daß bei Mundspülungen mit Glucoselösungen die sofort einsetzende Säureproduktion nach einer halben Stunde bereits wieder aufgehört hat, weil das Substrat aufgebraucht ist (R.M.STEPHAN und B.F.MILLER, 1943).

Die Zuckerkonzentration bei der Aufnahme von Süßigkeiten kann so hoch werden, daß die bakterielle Säureproduktion sogar gehemmt wird.

1966 hat H.EGGERS-LURA nachgewiesen, daß nur die Anwendung von verdünnten Zuckerlösungen (0,5 - 15%) in Kariesversuchen Läsionen zustande bringen kann. "Wenn dagegen hohe Zuckerkonzentrationen (18 - 75%), die auf Grund klinischer Erfahrung als kariogen betrachtet werden müssen, in den Kariesversuchen verwendet werden, wird Bakteriostase und ein Anstieg des pH in den Plaques beobachtet."

Ein weiteres Beispiel dafür, daß erhöhte Konzentration der Kohlenhydrate nicht die Voraussetzung für einen verstärkten Kariesbefall darstellt, ist folgendes: Die amerikanische Durchschnittsnahrung besteht unter anderem aus 17,3% Kohlenhydraten und ruft einen genauso starken Kariesbefall hervor wie eine kariogene Spezialdiät mit 67% Kohlenhydraten (C.A.ELVEHJEM, 1948).

Die Versuche zeigen, daß die niedermolekularen Kohlenhydrate schnell in die Plaques diffundieren und dort nur kurze Zeit als Substrat zur Verfügung stehen. Sie sind nur dann kariogen, wenn sie häufig zugeführt werden, wobei niedrige Konzentrationen mindestens genauso wirksam sind wie hohe Konzentrationen.

Somit kann man sagen, daß die Kariogenizität eines kohlenhydrathaltigen Substrats von seiner Verweildauer im Munde stark abhängig ist. Ein hochmolekulares visköses Substrat muß infolge seiner Klebrigkeit länger im Munde verweilen als ein niedermolekulares dünnflüssiges Substrat. Damit wird neben der Häufigkeit der Substratzufuhr die Verweildauer eines Substrats nach den Mahlzeiten zum bestimmenden Faktor.

Welche Rolle spielt nun in diesem Zusammenhang die Amylase?

Von ihrer Aktivität hängt in nicht geringem Maße die Verweildauer hochmolekularer Substrate im Munde ab. So fanden Y.ERICSON, I.HELLSTRÖM, B.JARED und L.STJERNSTRÖM (1954) eine rasche Verzuckerung von Stärke in der Mundhöhle durch hohe Amylaseaktivität und - damit verbunden - eine rasche Stärkeelimination.

Man darf annehmen, daß die nach der Nahrungsaufnahme noch in der Mundhöhle verbliebene Stärke relativ rasch abgebaut und eliminiert wird, vorausgesetzt, daß die Amylaseaktivität groß genug ist. Ob durch die Amylase tatsächlich die gesamte Stärke eliminiert wird oder ob nicht doch noch kleinste Reste längere Zeit über im Munde verweilen, ist eine Frage, die einer theoretischen Erwägung bedarf.

Ist nicht die Retention der Stärke und ihrer Abbauprodukte gerade an den Stellen besonders stark, die im Hinblick auf die Kariogenese von größter Bedeutung sind, nämlich den Plaques? Gerade in den Fissuren, den Approximalräumen und den unter sich gehenden Stellen der buccalen und lingualen Dritteln der Glattflächen ist eine rasche mechanische Elimination klebriger Kohlenhydrate durch Zunge und Speichel äußerst schwierig. Diese Elimination kann bei hoher Amylaseaktivität beschleunigt werden, bei schwacher Aktivität jedoch weiter verzögert werden, so daß auch Stärke als kariogenes Substrat wirken kann.

In-vitro-Versuche von F.PRADER (1956) über die Beeinflussung des Speichel-pH durch verschiedene Kohlenhydratanteile kommen diesen theoretischen Ausführungen sehr entgegen.

Er konnte feststellen, daß nach einer bestimmten Zeit nicht nur die leicht-löslichen niedermolekularen Kohlenhydrate wie Glucose und Saccharose, sondern auch die schwerlöslichen Kohlenhydrate gleichermaßen das pH des Speichels verändert haben. Die über den Abbau der Stärke durch Amylase und Bakterienenzyme gebildete Säure ist genauso stark wie die direkt von den Bakterien aus Monosacchariden gebildete Säure. Nach 5 Stunden soll das pH einen Wert von 4,8 erreicht haben, der genügt, den Zahnschmelz anzugreifen. "Diese Feststellung gibt zu Bedenken Anlaß, wurde doch angenommen, daß Brotreste zwischen den Zähnen nur so lange kariogen wirken, als lösliche Kohlenhydrate vorhanden sind. Nun zeigt es sich aber, daß der schwerlösliche Brotanteil ebenso säurebildend ist. Somit kommt den Brotresten, die in Fissuren und zwischen Kontaktpunkten liegen bleiben, ebenfalls eine kariogene Funktion zu, auch wenn diese Brotreste vom Speichel ausgelaugt sind. Auch unsere Hamsterversuche zeigen, daß die Stärke vor allen Kohlenhydraten die Karies auslöst und nicht die löslichen Zucker. Die Karies scheint deshalb weitgehend ein Stärkeproblem zu sein" (F.PRADER).

Untersuchungen von anderen Autoren über die Kariogenizität von Monosacchariden und Stärke ergeben jedoch wieder ein völlig anderes Bild.

So haben P.RIETHE und W.ZILZ (1966) im kurzfristigen Rattenversuch die karieshemmende oder -fördernde Wirkung von Experimentaldiäten untersucht und festgestellt, daß eine Zuckerdiät (66% feiner Zucker) ausgedehnte Dentinläsionen erzeugt, während eine Stärkediät (66% feine Stärke) nur Schmelz- und initiale Dentinläsionen hervorruft.

G.FROSTELL (1965) hat bei Messungen in Plaques in situ nur geringe Säurebildung aus Stärke gefunden. Stark kariogen waren dagegen Mono- und Disaccharide, von denen die Saccharose die größte praktische Bedeutung hatte. Die geringe Kariogenizität der Stärke und ihrer Abbauprodukte erklärte sich der Autor folgendermaßen: "Für die großen Stärkemoleküle ist die Geschwindigkeit der Diffusion in die Tiefe der Plaques extrem niedrig. Die Mengen von niedermolekularen Kohlenhydraten, wie Glucose, die aus Stärke unter dem Einfluß der Speichelfermente entstehen, sind gering und werden wahrscheinlich fortlaufend, vielleicht sogar aerob, in oberflächlichen Plaqueschichten abgebaut, so daß sich nicht in gleichem Ausmaß Säuren in tiefen schmelznahen Plaqueschichten akkumulieren wie nach der ungehinderten Diffusion von Zucker."

F.BRAMSTEDT (1965), W.H.BOWEN und J.E.EASTOE (1966), T.H.GRENBÝ (1966) und T.M.MARTHALER (1966) kamen zu ähnlichen Resultaten.

Obwohl K.KÖNIG der Amylase als möglichem Faktor in der Kariesätiologie keine große Bedeutung beimißt, schon allein deswegen, weil die bisherigen Untersuchungen über eine Korrelation zwischen Amylase und Karies widersprüchliche Ergebnisse enthielten, macht er doch folgende interessante Feststellung: "Polysaccharide sind nur dann für die Mundhöhle als Substrat verfügbar, wenn sie infolge von Klebrigkeit oder durch Einkeilung in Fissuren und Interdentalräume relativ lange retiniert werden.

... Generell ist die Kariesgefährdung durch klebrige, weiche, die Selbstreinigung nicht fördernde Kohlenhydrate größer als durch solche von harter Konsistenz ... " Da aber gerade die höhermolekularen Abbauprodukte der Stärke, nämlich die Dextrine, von klebriger Konsistenz sind, können sie durchaus als ein kariesförderndes Substrat angesehen werden, sofern die weitere Verflüssigung des gesamten Substrates durch die Amylase nicht zu rasch erfolgt.

Damit aber steht die Amylaseaktivität im Mittelpunkt des Problems.

Th.LAMMERS (1956) macht die Elimination der Stärke durch die Amylase abhängig von dem Grad des Substratangebotes. Er bemerkt dazu: "Wenn klebrige Beläge so reichlich sind, daß ihre vollständige Verflüssigung durch Diastase in kurzer Zeit nicht möglich ist, dann muß der durch Diastase leicht vergärbare gemachte Anteil des Substrats einen besonders günstigen Nährboden für die säurebildenden Bakterien ergeben. Sind die Kohlenhydratreste dagegen spärlich, so daß die Diastaseaktivität des Speichels eine rasche Entfernung bewirkt, so wird sie sich karieshemmend auswirken. Es liegt also wohl an der Relation zwischen abzubauenem Substrat und abbauendem Ferment, ob sich die Diastase des Speichels kariesfördernd oder karieshemmend auswirkt. - Die Zufuhr überschüssiger Diastase wirkt sich in jedem Fall günstig aus."

Nach H.P.PICKERILL (1924) und C.D.M.DAY (1934) ist die Geschwindigkeit des Stärkeabbaus weniger durch die Menge des Substrats als durch die Menge und Konzentration der Amylase im Speichel bedingt. Wenn die Aktivität der Amylase gering ist, stehen die Stärke und deren Abbauprodukte den Bakterien als Substrat längere Zeit zur Verfügung, so daß die Säureproduktion durch die Mikroorganismen gefördert wird. Diese entstandene Säure wiederum hemmt die Aktivität der Amylase, so daß ständig Substrat vorhanden ist, welches die Milchsäuregärung und damit auch die Destruktion der Zahnoberfläche begünstigt.

H.P.PICKERILL meint dazu folgendes: "Wenn die durch die Amylase eingeleitete Reaktion wesentlich schneller verläuft als die Säureproduktion, so ist die Möglichkeit gegeben, daß die ganze Stärke in Maltose umgewandelt wird. Es ist deswegen ein großer Unterschied, ob man ständig überhaupt keine Amylase hat oder aber eine beträchtliche Menge davon."

Es besteht demnach eine Konkurrenz zwischen der Amylase, die für eine möglichst schnelle Elimination der Stärke sorgt, und den Säurebakterien, die die Abbauprodukte der Stärke, nämlich Maltose und Glucose, benötigen. Diese Konkurrenz kann je nach Amylaseaktivität sowohl zugunsten der einen als auch der anderen Seite entschieden werden. Ist die Amylaseaktivität groß, so bedeutet dies für die Bakterien schlechte Wachstumsbedingungen infolge zu kurzer Verweildauer des Substrats; ist die Amylaseaktivität schwach, so bedeutet dies für die Bakterien längeres, wenn auch pro Zeiteinheit geringeres Substratangebot.

Wenn diese Zusammenhänge richtig sind, so muß zwischen der Amylaseaktivität und der Karies ebenfalls ein Zusammenhang bestehen.

6. AMYLASE ALS KARIESPROPHYLAKTIKUM

Die meisten Versuche, die in dieser Richtung bisher gemacht worden sind, lassen keine endgültige Antwort auf die Frage zu, ob eine Beeinflussung der Karies durch zusätzliche Erhöhung der Amylaseaktivität von außen mit Hilfe von Tabletten oder Pasten tatsächlich erfolgt.

D.KESSLER (1966) konnte bei mikroskopischen Untersuchungen der Zahnoberfläche beobachten, daß restliche Beläge auf einigen Zähnen durch die Amylase zur Auflösung gebracht wurden.

K.W.ZILZ (1965) machte In vitro und In vivo Versuche mit Enzympasten: "In einer experimentellen Versuchsreihe wurden verschiedene Amylasen, proteolytische Fermente und eine Lipase auf ihre lytische Wirkung zur Verwendung bei der Entfernung weicher Beläge der Zahnreihen im Sinne der Vorstufe für die Bildung von Zahnstein ausgetestet." Dabei hatte sich eine Enzympaste mit bestimmter Enzymkombination (1% Amylase und 0,5% Trypsin) für die klinischen Versuche als vorteilhaft erwiesen. Der Autor konnte in vielen Einzelversuchen nachweisen, daß bei Benutzung dieser Enzympasten weiche Beläge der Mundhöhle beseitigt werden können.

M. MUER (1958) stellte nach der lokalen Behandlung der Mundhöhle mit Amylasetabletten folgendes fest: "Bei lokaler Applikation in der Mundhöhle konnten wir bei sämtlichen Patienten infolge der Amylasewirkung ein Verschwinden der Beläge und einen Anstieg des pH-Wertes beobachten. Das Verschwinden der Beläge führen wir auf die stärkehydrolysierende Kraft der Diastase zurück, und die verringerte Viskosität macht eine mechanische Entfernung der Beläge beim Kauakt möglich."

Alle diese Versuche machen eine grundlegende Aussage: Amylase, in erhöhter Konzentration von außen zugeführt, löst weiche Beläge auf.

Die Frage, ob damit gleichzeitig eine Wirkung in Richtung einer Kariesprophylaxe erzielt werden kann, bleibt offen. Denn nicht alle Beläge sind kariogen. Gestützt auf die Beobachtung völliger Kariesfreiheit trotz starker Belagbildung sah G. V. BLACK (1914) solche Beläge als nicht kariesverursachend an, die für Wasser leicht durchgängig sind und daher durch den Speichel ausgelaugt werden können.

Trotz dieser Einschränkung beweisen diese Versuche dennoch, daß der Reinigungseffekt des Speichels durch erhöhte Amylasekonzentration in der Mundhöhle verstärkt wird.

Die neueste Arbeit über dieses Problem liegt von P. RIETHE und W. ZILZ (1966) vor. Hier ist tatsächlich im kurzfristigen Rattenversuch ein leichter karieshemmender Effekt einer Amylasepaste (0,22% Bakterienamylase) erzielt worden. Die Tiere selbst wurden mit einer Zucker-Stärke-Diät (33% feiner Zucker 33% feine Stärke, 32% Magermilchpulver, 2% Trockenleber) und destilliertem Wasser gefüttert. Die kariogene Wirkung dieser Diät, die in einem Vorversuch geprüft worden war, wurde durch die Amylasepaste herabgesetzt.

Obwohl dieser Tierversuch nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden kann, deckt sich das Ergebnis doch gut mit den Vorstellungen von H. P. PICKERILL (1924) und L. D. M. DAY (1934), die die Kariesaktivität von der Konzentration der Amylase abhängig machen.

7. ZIEL DER VERSUCHE

Wie die in der Einleitung angeführten Versuche über das Thema "Karies und Amylase" gezeigt haben, bestehen widersprüchliche Auffassungen über die Bedeutung der Amylase innerhalb der Kariogenese.

Wir gehen davon aus, daß die Versorgung der für die Karies verantwortlichen Säurebakterien durch die Aktivität der Amylase beeinflußt werden kann.

Als Gradmesser für die Bedeutung der Amylase im kariösen Prozeß dient der Zusammenhang zwischen der Anzahl der klinisch diagnostizierbaren kariösen Läsionen und der schon versorgten Defekte mit der gemessenen Aktivität der Amylase selbst.

Ist in allen Versuchen eine Änderung der Amylaseaktivität mit einer deutlich sichtbaren Änderung des Erscheinungsbildes der Karies verbunden, so darf man annehmen, daß Zusammenhänge bestehen. Da wir von der Vermutung ausgingen, daß etwaige Zusammenhänge nicht ohne weiteres offen zu Tage treten, haben wir scharfe Maßstäbe an die Methodik der Untersuchungen angelegt.

Während die WILLSTÄTTER-Methode alle Voraussetzungen für eine genaue Messung der Amylaseaktivität erfüllt, sind die gebräuchlichen Methoden zur Bestimmung des kariösen Erscheinungsbildes nicht so günstig. Hier sollen zwei Methoden gleichzeitig zur Anwendung gelangen, da jede für sich nicht ausreicht, das kariöse Erscheinungsbild exakt zu erfassen. Außerdem sollen die Ergebnisse beider Methoden zueinander in Beziehung gebracht werden.

8. METHODIK DER AMYLASEAKTIVITÄTS-BESTIMMUNG

a) Versuchspersonen

Es handelte sich um 50 junge Leute beiderlei Geschlechts. Da die Amylaseaktivität mit dem Geschlecht in keinem nachweisbaren Zusammenhang steht, konnte auf eine Unterteilung in Gruppen verzichtet werden (vgl.hierzu: C.D.M.DAY, 1934, und J.H.SULLIVAN und C.A.STORVICK, 1950). Das Alter der Versuchspersonen lag zwischen 20 und 25 Jahren. Der Allgemeinzustand der Versuchspersonen war gut.

b) Speichelentnahme

Zunächst mußte geklärt werden, ob Ruhespeichel (RS = resting saliva) oder Reizspeichel (AS = activated saliva) untersucht werden sollte. Abgesehen davon, daß die Entnahme des Nüchternspeichels in größerem Maßstab nur sehr schwer durchzuführen ist, ist dieser bei unserer Problemstellung ohne Bedeutung. Es soll ja nicht geprüft werden, inwieweit die Amylaseaktivität nachts durch pH oder andere Faktoren beeinflusst werden kann, sondern welche Amylasekonzentrationen im Speichel unter ähnlichen Bedingungen, wie sie beim Essen vorliegen, erzielt werden können; denn entscheidend ist die Amylaseaktivität während und nach dem Essen gemäß ihrer Funktion der Stärkeelimination. Aus diesem Grunde wurde AS gewählt.

Zur Entnahme wurde ein bestimmter Zeitpunkt eingehalten. Dieser lag bei allen Versuchspersonen drei bis vier Stunden nach dem Mittagessen zwischen 16.30 und 17.00 Uhr. Zwischen Mittagessen und Entnahme hatten die Versuchspersonen nichts zu sich genommen, um das Speichelbild vor der Entnahme nicht zu verändern.

Zur Gewinnung des AS erhielten die Versuchspersonen als Stimulans festes Paraffin zum Kauen.

Das Speichelgemisch von Parotis, Submandibularis und Sublingualis wurde in 10 ml-Reagensgläsern mit Hilfe eines Trichters aufgefangen und sofort bei einer Temperatur um 0° kühl gestellt, um jede Reaktion zu unterbinden, die den Wert der Amylaseaktivität verfälschen könnte. Die durchschnittliche Speichelsekretion betrug 2 ml pro min. Um einen möglichst genauen Durchschnittswert der Amylase zu erlangen, wurden von jeder Versuchsperson ca. 6 ml Speichel eingesammelt.

Einige Kontrollversuche über die Lagerungswirkung des Speichels hatten ergeben, daß bei Lagerung im Kühlschrank nach 24 Stunden noch keine Veränderung der Amylaseaktivität festzustellen war, während die Aktivität bei einer Temperatur von 20° C, selbstverständlich ohne Zusatz von Stärke, leicht abgesunken war. Da die Proben sofort nach Entnahme kühl aufbewahrt und die Versuche spätestens drei Stunden danach durchgeführt wurden, konnte mit der ursprünglichen Aktivität gerechnet werden.

Der Speichel wurde weder filtriert noch zentrifugiert, um die natürlichen Bedingungen, unter denen die Amylase wirkt, nicht zu verändern.

Vor der jeweiligen Untersuchung wurde der Speichel gut durchgeschüttelt.

c) Bisher angewandte Methoden

Die Methode nach J. WOHLGEMUTH (1910) wurde bisher in unserem Zusammenhang am häufigsten angewendet und soll deswegen genauer beschrieben werden:

10 Reagensgläser werden fortlaufend numeriert und mit je 1 ml Puffer-Kochsalzlösung versetzt. In das erste Reagensglas pipettiert man 1 ml Speichel, mischt durch vorsichtiges Aufziehen in die Pipette und entnimmt 1 ml aus dem Ansatz. Diese Probe führt man in Reagensglas 2 über, mischt und entnimmt wiederum eine 1 ml-Probe usw. Die aus Reagensglas 9 entnommene Probe wird verworfen. Reagensglas 10 (ohne Speichel) dient als Kontrolle.

Alle Ansätze werden mit 2 ml 1% -Stärkelösung versetzt, gut gemischt und während 30 min im Wasserbad (37° C) inkubiert.

Am Schluß der Inkubierung werden die Proben sofort in Eiswasser gestellt; sie werden mit 3 Tropfen Jodreagens versetzt, gemischt und das Resultat abgelesen. Es bedeuten: Ansatz tiefblau = Stärkeabbau unvollständig; Ansatz schwach rötlich oder hellgelb (Eigenfarbe des Jods) = Stärkeabbau praktisch vollständig. Für die Beurteilung maßgebend ist der Ansatz mit der geringsten Enzymkonzentration, in welchem sich praktisch keine Stärke mehr nachweisen läßt.

Mit dieser Methode lassen sich keine exakten Werte berechnen, da die Beurteilung des Farbumschlags im Gegensatz zum Titrieren einfach zu grob erfolgt. Es ist durchaus möglich, daß die unterschiedlichen Ergebnisse vieler Untersuchungen darauf zurückzuführen sind.

V.C.MYERS und A.G.DELLENBAUGH entwickelten 1918 ebenfalls eine kolorimetrische Methode, die die Amylaseaktivität des Speichels in Prozentgehalt der zu reduzierendem Zucker abgebauten Stärke angaben.

J.T.GORE (1938) benutzte eine Methode, deren Entwicklung von A.P.MATHEWS (1931) schon angeregt worden war. Dabei wurde der Amylaseindex in Zeiteinheiten ausgedrückt. Man stoppte die Zeit in Minuten, die die Speichelamylase zum völligen Abbau der Stärke benötigte, bis der anfangs dunkelblau gefärbte Jod-Stärke-Komplex gelb wurde. Je kürzer die gemessene Zeit, desto größer war die Amylaseaktivität.

J.PRATT und L.C.EISENBRANDT (1944) verfeinerten die kolorimetrische Methode mit Hilfe eines photoelektrischen Kolorimeters.

W.C. HESS und B.T. SMITH (1948) versuchten, die kolorimetrische Methode durch eine rein quantitative zu ersetzen. Dabei wurde die reduzierende Eigenschaft der Glucose mit Hilfe der FOLIN-WU-Methode berechnet. Die Amylaseaktivität wurde ausgedrückt in Glucose-Äquivalenten.

Von den bisher angewandten Methoden ist die letztgenannte im Prinzip die beste, da sie sich nicht auf die subjektive Beurteilung von Farbabstufungen wie bei der kolorimetrischen Methode verläßt. Leider geht aus den Ausführungen der beiden Autoren nicht klar hervor, wie lange die Reaktion dauern muß, bis so viel Glucose entsteht, daß diese Menge einen leicht meßbaren Wert ergibt. Denn Amylase baut die Stärke hauptsächlich bis zur Maltose ab, und Glucose wird nur in kleinen Mengen durch die Spaltung von Maltotriose gebildet. Die Reaktion darf auf jeden Fall nicht länger als 10 min dauern, da sonst infolge zu starker Anhäufung der Reaktionsprodukte der weitere enzymatische Abbau gehemmt wird.

Wir haben deshalb der in diesem Zusammenhang zum ersten Male angewandten WILLSTÄTTER-METHODE den Vorzug gegeben.

d) Willstätter-Methode

Das Prinzip der Amylasebestimmung nach R. WILLSTÄTTER (1923) ist folgendes: Für die Bestimmung der Speichelamylase dient ein Medium von pH 6,8, eingestellt durch Phosphatpuffer nach SÖRENSEN. Zur Amylase-Aktivierung wird NaCl zugesetzt. Die Hydrolyse von 0,25 g Stärke wird bei 37° C während einer Reaktionszeit von 10 min verfolgt. Die gebildeten Carbonylgruppen werden mit der streng stöchiometrischen Hypojodid-Titration gemessen.

Ausführung:

1 ml Speichel

9 ml Aqua dest.

10 ml SÖRENSEN-Phosphatpuffer

1 ml 0,2 n NaCl-Lösung

werden in einen 300er Erlenmeyer-Kolben mit Schliff gegeben und auf 37° C erwärmt. Sobald das Reaktionsgemisch im Thermostaten die Temperatur von 37° C erreicht hat, werden 25 ml 1%ige Stärkelösung, die ebenfalls auf 37° C vorgewärmt wurden, zugefügt; Zeit $t = 0$. Nach einer Reaktionszeit von 10 min bei 37° C wird die Reaktion durch Zusatz von 2 ml 1 n HCl unterbrochen; Zeit $t = 10$ min.

Der Kolben wird aus dem Thermostaten genommen und die Flüssigkeit auf ca. 20° C abgekühlt. Sobald diese Temperatur erreicht ist, fügt man

10 ml n/10 Jod-Lösung,
30 ml n/10 NaOH (tropfenweise)
30 ml n/10 NaOH (rasch)

hinzu und läßt den verschlossenen Kolben 15 min lang stehen. Danach wird mit ca. 0,8 ml H₂SO₄ (1:1) angesäuert und das überschüssige Jod mit n/10 Na₂S₂O₃-Lösung zurücktitriert.

Bei dem Blindwert sind 10 ml Jod vorgelegt; da hier die Amylase nicht reagieren kann, müßten theoretisch auch 10 ml Thiosulfat verbraucht werden. Da die Reagentien und der Speichel selbst etwas Jod verbrauchen, können nie die 10 ml Jod zurücktitriert werden. Vom Blindwert wird der Titrierwert abgezogen. Der Jodverbrauch im Blindversuch belief sich gewöhnlich auf 1 ml 0,1 n Jodlösung. Den Blindwert erhält man, indem man die 2 ml 1 n-HCl vor den 25 ml Stärkelösung zusetzt, da ein Abbau der Stärke durch Amylase in dem stark sauren Milieu nicht stattfinden kann. Wenn z.B. beim Zurücktitrieren mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung 9,0 ml verbraucht werden, so beträgt der Jodverbrauch beim Blindwert 1,0 ml. Nach Abzug dieses Leerwertes vom Hauptwert kann die gefundene Jodmenge nach dem Verhältnis

$$17,15 \text{ mg } \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} : 1 \text{ ml n/10 Jod}$$

als Maltose berechnet werden.

Die verbrauchte Jodmenge kann auch ohne die Umrechnung in Maltose als direktes Maß für die Amylaseaktivität angesehen werden.

Diese quantitative Methode ist zwar umständlich und zeitraubend, ergibt aber dafür um so genauere Meßergebnisse, die durch keine der bisher angewandten Methoden erzielt worden sind.

e) Meßergebnisse der Amylasebestimmung

Die mit Hilfe der WILLSTÄTTER-METHODE gefundenen Werte können durchaus als Maß für die Amylaseaktivität angesehen werden, da sie diejenige Jodmenge in ml darstellen, die zur Oxydation der Carbonylgruppen der Maltose erforderlich ist. Je größer die Amylaseaktivität ist, desto mehr Maltose entsteht und desto mehr Jod wird reduziert. Die Amylaseaktivität ist also direkt proportional zu den gefundenen Werten.

Insgesamt wurden 225 Einzelanalysen durchgeführt: 175 Untersuchungen auf Amylaseaktivität und 50 Blindversuche.

Die Annahme, daß eine einmalige Untersuchung eines Probanden auf seine Amylaseaktivität nicht ausreichen würde, um sich über diese ein klares Bild zu verschaffen, hat sich als richtig erwiesen. Es haben sich nämlich individuelle Schwankungen innerhalb der Versuchsperiode ergeben. Um die Schwankungen über einen längeren Zeitraum zu verfolgen, sind die Untersuchungen in einem Abstand von 1 - 2 Wochen durchgeführt worden. Falls die 3 von jedem Probanden ermittelten Werte sehr unterschiedlich waren, wurden die Speicheluntersuchungen auf insgesamt 5 ausgedehnt.

Die an verschiedenen Tagen von jedem Probanden gefundenen Einzelwerte wurden in 3 Koordinatensystemen zueinander in Beziehung gesetzt (Abb.1). Aus der graphischen Anordnung der Kreise, die die Einzelwerte darstellen, ist ohne weiteres ersichtlich, daß zwar eine gewisse Streuung der Werte vorhanden ist, die Werte jedoch die Tendenz haben, sich um die 45°-Achse zu gruppieren. Die Streuung der Einzelwerte ist also nicht so groß, daß es zwecklos wäre, daraus einen Durchschnittswert ermitteln zu wollen. Die Durchschnittswerte aus den Werten 1 bis 3 bzw. 1 bis 5 sind aus Tab.1 zu ersehen. Der tiefste Wert liegt bei 1,44, der höchste bei 7,32. Dabei muß jedoch hervorgehoben werden, daß zwischen diesen beiden Extremwerten alle anderen Werte nicht etwa gleichmäßig verteilt liegen, sondern daß 47 der 50 Durchschnittswerte zwischen 6,74 und 7,21 liegen und die restlichen drei Werte Ausreißerfälle sind. Die Unterschiede der Durchschnittswerte sind demnach nicht sehr groß.

Bei den Blindversuchen wurden Werte um 1,00 ermittelt mit einer geringfügigen Schwankungsbreite von $\pm 0,02$, die auf Meßungenauigkeiten während des Versuchs zurückzuführen ist.

Der durchschnittliche Jodverbrauch aller 50 Versuchspersonen betrug 6,85 ml. Diesem Jodverbrauch entsprechen 117,5 mg Maltose, so daß von den 250 mg Stärke innerhalb von 10 min durchschnittlich 47% in Maltose umgesetzt wurden.

In der Mundhöhle wird in dieser Zeit wesentlich mehr umgesetzt, da ständig frische Speichelamylase zugeführt und die verflüssigte Stärke abtransportiert wird; hier spielt die Hemmung der Amylaseaktivität durch die eigenen Spaltprodukte keine so große Rolle, wie dies In vitro der Fall ist.

9. METHODIK DER KARIESBESTIMMUNG

a) Klinische Untersuchungen

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe von Spiegel und Sonde durchgeführt - einer abgebogenen Sonde zur Untersuchung der Glattflächen und Fissuren und einer gedrehten Kuhhornsonde zur Untersuchung der Approximalflächen.

Als Karies wurde jeder Defekt gerechnet, in dem die Spitze der Sonde haften blieb (vgl. hierzu: H.TÜRKHEIM, 1925, C.D.M.DAY und H.J.SEDWICK, 1935, R.F.SOGNNAES, 1940).

Nachdem L.W.BURKETT (1941) feststellte, daß 25% aller kariösen Defekte weder durch klinische noch röntgenologische, sondern nur durch histologische Untersuchung diagnostiziert werden können, darf man die eigenen Untersuchungen dahingehend einschränken, daß sie nur die klinisch nachweisbare Karies umfassen. Bei der Untersuchung der Approximalflächen wurde besondere Sorgfalt angewendet.

b) Bisher angewandte Methoden

Wir unterscheiden eine direkte und eine indirekte Methode zur Bestimmung des Kariesbefalls. Die direkte Methode beurteilt den Kariesbefall nach dem klinischen Erscheinungsbild, die indirekte Methode nach dem Vorkommen des *Lactobacillus acidophilus*.

H.BECKS (1948) hält die Bestimmung der Kariesaktivität ohne die quantitative Berechnung der Säurebildner für wertlos.

Nach B.G.BIBBY (1948) ist jedoch die Genauigkeit des *Lactobacillus acidophilus*-Tests mindestens genau so unsicher wie die der klinischen Untersuchung der Zähne.

R.G.KESEL (1943) hat als erster auf die Fragwürdigkeit dieses Tests hingewiesen. Er meinte, man könne leicht Ursache und Wirkung verwechseln, da der *Lactobacillus* vielleicht nur Nutznießer des Milieus sei und die Karies ihm erst die Existenzmöglichkeit verschaffe. Tatsächlich haben F.J.ORLAND und seine Mitarbeiter (1954) nachgewiesen, daß für die initiale Karies nicht die *Lactobacillen*, sondern 2 *Streptokokkus*-Typen verantwortlich zu machen sind. Da wir jedoch auch kreidige Verfärbungen und Rauigkeiten der Schmelzoberfläche im Sinne einer initialen Karies berücksichtigen wollen, haben wir

bei unseren Untersuchungen den Kariesindex zur Bestimmung der Kariesaktivität herangezogen. Dabei ergaben sich bei der Auswahl der Methodik folgende Möglichkeiten:

Beim DMF-Index oder "decayed-missing-filled teeth index" summiert man alle gefüllten und kariösen Zähne mit den infolge kariösen Zerfalls extrahierten Zähnen, multipliziert die Summe mit 100 und dividiert mit der Zahl der durchgebrochenen Zähne. Jeder extrahierte Zahn, entfernt aus Gründen kieferorthopädischer Therapie, sowie jeder durch Trauma verlorene Zahn wird nach dem Vorschlag H. TÜRKHEIMS (1925) wie der im gleichen Kiefer auf der entgegengesetzten Seite stehende Zahn beurteilt.

Ch.F. BOEDECKER (1939) registriert die Kariesdichte, indem er die Zahl der angegriffenen Zahnflächen festlegt. Er geht bei jedem Zahn grundsätzlich von 5 Zahnflächen aus, selbst bei den Schneide- und Eckzähnen. Jede von Karies angegriffene Fläche wird gerechnet. Wird z.B. die Approximalfläche eines Schneidezahnes so stark angegriffen, daß der incisale Rest der Approximalfläche frakturiert, so wird die Incisalkante ebenfalls als kariös gerechnet. Der verstärkte Kariesangriff erhält dadurch seinen Ausdruck, daß 2 Flächen registriert werden. Außerdem nimmt der Autor folgende Flächenunterteilungen vor: Die Okklusalfächen der 6 Oberkiefermolaren werden als 2 Einheiten gerechnet wegen des starken Schmelzwulstes, der die mesiale und distale Fissur voneinander trennt. Diese Fissuren werden auch oft getrennt von der Karies angegriffen. An 76/67 findet man meist an der palatinalen Fläche ein ausgeprägtes Grübchen, das oft unabhängig von der Zahnhalspartie befallen ist. Diese Flächen unterteilt der Autor daher in je zwei Einzelflächen. Bei den unteren 6 Molaren liegt das gleiche Bild vor an der buccalen Fissur mit dem Foramen coecum.

Auch diese Flächen unterteilt er in je zwei Einzelflächen. Schließlich gilt das Gleiche für die Kauflächen der Unterkieferprämolaren mit einer starken Schmelzquerleiste zwischen der mesialen und distalen Fissur.

Ch.F. BOEDECKER kommt auf diese Weise auf insgesamt 180 Flächen im ganzen Gebiß: 32 Zähne mit je 5 Flächen und die genannten 20 unterteilten Flächen. Da er immer mit dem gleichen Divisor 180 im reifen Gebiß rechnet, läßt er diesen fort und notiert nur die Anzahl der kariösen Flächen. Jeder extrahierte oder überkronte Zahn wird mit 3 Flächen gerechnet, jedoch wird der Index nicht erhöht, wenn der Zahn nachweislich gesund war und aus kieferorthopädischen Gründen oder infolge eines Traumas verloren ging. Dasselbe gilt für überkronte Zähne, die als gesunde Zähne zu Brückenpfeilern benutzt

wurden. Der Autor fand, daß extrahierte Zähne durchschnittlich 3,1 kariöse Flächen hatten, weshalb er 3 Flächen bei fehlenden Zähnen festlegte.

M.MELLENBY (1934) teilt die Kariesherde nach Größe und Tiefe ein. Es handelt sich also um eine Flächen- und Tiefenregistrierung der Karies. Sie unterscheidet vier Kariestypen. Es scheint sehr schwierig, das subjektive Urteil auszuschließen, besonders wenn es um die Tiefe gefüllter Kavitäten geht, die oft kaum mit Röntgenkontrolle sicher festgelegt werden können. Dieser Index hat daher auch geringe Anwendung gefunden.

c) Auswahl der Methodik

Keinen der bisher genannten Kariesindizes kann man als ideal ansehen. Beim BOEDECKER-Index wird zwar die Registrierung des kariösen Befalls von 32 möglichen Zähnen auf 180 mögliche Angriffsflächen erweitert und stellt demnach eine wesentlich feinere Methode dar, doch bleiben gefüllte Zähne vollkommen unberücksichtigt.

Der Index bietet günstige Voraussetzungen zur Registrierung neuer Kariesflächen bei der Beurteilung des Karieszuwachses innerhalb einer bestimmten Zeitspanne, ist aber nicht vorteilhaft zur Bestimmung des Gesamtkarieserscheinungsbildes, welches ja auch durch frühere Kariesaktivität geprägt worden ist.

So ist es nach unserer Auffassung nicht tragbar, einen Probanden mit 25 Füllungen und einem einzigen kariösen Defekt - nach dem BOEDECKER-Index - in die Gruppe der Kariesresistenten einzustufen.

Umgekehrt muß der DMF-Index als zu grob angesehen werden, da er den Grad des kariösen Befalls am einzelnen Zahn in keiner Weise berücksichtigt und einer alten Füllung der gleiche Wert zugeteilt wird wie einer akuten Karies.

Ebenso wie bei dem BOEDECKER-Index wurde bei dem DMF-Index der Divisor 32 weggelassen, da dieser im reifen Gebiß stets der gleiche ist (vgl. hierzu A.BUHS, 1959).

Von einigen Modifikationen abgesehen, stellen die beiden Methoden die Hauptmethoden zur Charakterisierung des kariösen Erscheinungsbildes dar. Dieses müßte, von zwei verschiedenen Blickrichtungen aus betrachtet, dafür um so klarer hervortreten.

Die bisherigen Resultate über die Beziehung Karies und Amylase sind sehr unterschiedlich und stehen sogar oft direkt im Widerspruch zueinander. Der Grund liegt hauptsächlich darin, daß in vielen Untersuchungen die verschie-

densten Methoden angewendet wurden. So haben manche Autoren für die Kariesbestimmung Methoden angewandt, die nach eigenen Gesichtspunkten aufgestellt wurden.

d) Ergebnisse der Kariesbestimmung

Bei dem Vergleich des DMF-Index mit dem BOEDECKER-Index ergeben sich folgende Resultate: Die Werte bei Anwendung des BOEDECKER-Index sind wesentlich niedriger und weisen eine weitaus geringere Variationsbreite auf als die des DMF-Index. Es erscheinen beim BOEDECKER-Index nur Werte von 0 bis 9 - zwei Werte ausgenommen -, während beim DMF-Index Werte von 0 bis 27 ermittelt werden konnten (Tab.2). Dies liegt daran, daß die Versuchspersonen insgesamt mehr Füllungen als kariöse Läsionen hatten. Bei Anwendung beider Indizes auf einen Einzelfall läßt sich in den wenigsten Fällen eine Entsprechung erkennen. Wird der DMF-Index und der BOEDECKER-Index in einem Koordinatensystem zueinander in Beziehung gebracht (Abb.2), so erkennt man, daß die Werte zur DMF-Koordinate hin verschoben sind, da bei jeder Versuchsperson den meist niedrigen BOEDECKER-Werten hohe DMF-Werte entsprechen. Die DMF-Werte liegen deswegen höher, weil mit dem DMF-Index auch der vorangegangene kariöse Prozeß retrospektiv erfaßt wird, während der BOEDECKER-Index nur die akute Karies berücksichtigt.

10. KORRELATIONSRECHNUNG VON MESSBAREN MERKMALEN

Die Frage eines möglichen Zusammenhangs zwischen zwei quantitativen Größen wird mit Hilfe der Korrelationsrechnung durchgeführt. Diese Methode ist wesentlich besser als die des Vergleichs zweier Extremwertgruppen.

Beim vorliegenden Problem werden folgende Größen zueinander in Beziehung gesetzt:

Amylaseaktivität (X)

und DMF-Index oder BOEDECKER-Index (Y).

Die Werte werden in ein zweidimensionales Koordinatensystem eingetragen. Da das Korrelationsbild nicht im Widerspruch zur Annahme eines linearen Zusammenhangs stand, wurde der BRAVAIS PEARSON'sche Korrelationskoeffizient r berechnet, und zwar nach folgenden Formeln:

$$\text{Korrelationskoeffizient } r = \frac{S_{xy}}{S_{xx} \cdot S_{yy}}$$

$$\begin{aligned} S_{xy} &= \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y}) (X_i - \bar{X}) \\ &= \sum_{i=1}^n x_i y_i - \frac{\sum_{i=1}^n X_i \cdot \sum_{i=1}^n Y_i}{n} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_{xx} &= \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 \\ &= \sum_{i=1}^n X_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X_i)^2}{n} \end{aligned}$$

S_{yy} analog S_{xx}

Ist der absolute Wert von $r = 1$, dann liegt vollständige lineare Abhängigkeit vor wie bei einer mathematischen Funktion; beträgt dagegen $r = 0$, so besteht kein bzw. kein linearer Zusammenhang. Umgekehrt kann aus $r = 0$ nicht zwingend auf das Fehlen eines Zusammenhanges geschlossen werden.

Die 0 - Hypothese lautet: Der Wert des Korrelationskoeffizienten r der Grundgesamtheit, aus der die vorliegenden Fälle gewissermaßen eine Stichprobe sind, beträgt 0. Der tatsächlich bei den vorliegenden Fällen errechnete Korrelationskoeffizient stellt eine Zufallsabweichung des Nullwertes der Grundgesamtheit dar. Die Wahrscheinlichkeit für die Nullhypothese wurde mittels einer Tafel für die Zufallshöchstwerte von r in Abhängigkeit von den sogenannten Freiheitsgraden (Zahl der Fälle minus 2) in Documenta Geigy geprüft. Wenn die Wahrscheinlichkeit für das Zutreffen der Nullhypothese gering ist (1% oder weniger), so wird die Nullhypothese verworfen. Man nimmt dann an, daß eine gesicherte statistische Beziehung zwischen der Größe X und der Größe Y besteht. Die Wahrscheinlichkeit für das Zutreffen der Nullhypothese bei ihrer Ablehnung nennt man Irrtumswahrscheinlichkeit (hier $P \leq 1\%$). ⁺)

11. RESULTATE DER KORRELATIONSSTATISTISCHEN AUSWERTUNG

Schon aus den Streudiagrammen für Amylaseaktivität und Kariesindizes erkennt man, daß die Kreise nicht linear zueinander in Beziehung stehen (Abb. 3, 4, 5 und 6). Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r ergab bei Anwendung des DMF-Index $r = -0,14$ und bei Anwendung des BOEDECKER-Index $r = -0,10$.

Die Null-Hypothese darf also nicht verworfen werden, das heißt, lineare Zusammenhänge sind nicht nachweisbar, was natürlich nicht das Fehlen eines biologischen Zusammenhanges beweist. Andererseits ist aber zu beachten, daß keine gesicherten Aussagen gemacht werden, obwohl 50 Versuchspersonen mit den bestmöglichen Methoden zur Charakterisierung von Amylase- und Kariesaktivität untersucht worden sind. Die beiden Methoden zur Bestimmung des Kariesbefalls ergaben sehr unterschiedliche Werte. Die Resultate, das heißt das Fehlen einer nachweisbaren Beziehung zur Amylaseaktivität, sind mit beiden Indizes gleich.

⁺) An dieser Stelle sei Herrn Dr. LANGE vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz (Dir.: Professor Dr. Dr. S. KOLLER) für die Beratung in statistischen Fragen herzlichst gedankt.

12. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Diese Ergebnisse erheben keinen Anspruch darauf, endgültig zu sein; dies könnte nur erreicht werden durch Vergrößerung des Kollektivs, Erfassung aller Altersstufen und Untersuchung der Personen über einen möglichst großen Zeitraum.

Die Durchschnittswerte der Amylaseaktivität der 50 Versuchspersonen waren nicht sehr unterschiedlich. Die Speicheldrüsen des Menschen produzieren demnach unter bestimmten Bedingungen, wie sie bei der Aufnahme von Nahrung und beim Kauen vorhanden sind, Reizspeichel, dessen Amylasegehalt recht konstant ist. Allein dieses Ergebnis genügt schon, an einem möglichen Zusammenhang zwischen Karies und Amylaseaktivität Zweifel aufkommen zu lassen: Wenn die Amylase einen konstanten Faktor in der Mundhöhle darstellt, dürfte der kariöse Befall ebenfalls nicht sehr unterschiedlich sein. Dies ist jedoch nicht der Fall. Die Feststellung, daß der Amylasegehalt des Reizspeichels nur eine geringe physiologische Schwankungsbreite aufweist, muß besonders hervorgehoben werden, da fast alle Autoren, die in der Einleitung erwähnt wurden, erhebliche Schwankungen der Amylaseaktivität fanden; dies liegt wohl an den bisher angewandten Untersuchungsmethoden zur Bestimmung der Amylaseaktivität.

Die Amylasewerte lagen innerhalb des Meßbereiches in der Nähe eines Maximalwertes, der nur in drei Fällen unterschritten wurde. Damit wird die Tatsache bestätigt, daß die Amylase in wirkungsvoller Konzentration in der Mundhöhle vorhanden ist. Sie stellt das erste wichtigste Ferment des Verdauungstraktes dar, obwohl nach F. LEUTHART die Menge an Stärke, die durch Speichelamylase im Magen abgebaut wird, immer gering ist gegenüber der durch Pankreasamylase im Darm hydrolysierten Stärke. Die wichtigere Funktion der Speichelamylase besteht wahrscheinlich in der Säuberung der Mundhöhle von stärkehaltigen Nahrungsteilchen. Sie unterstützt somit die reinigende Funktion von Spülspeichel und Zunge. Man kann sie in gewissem Sinne als "clearance factor" der Mundhöhle betrachten. Dennoch ergaben sich keine Zusammenhänge zwischen Speichelamylase und Kariesbefall. Selbst drei Ausreißerfälle mit extrem niedriger Amylasekonzentration wiesen durchschnittliche Kariesindizes auf. Worin ist die Ursache dafür zu suchen? Wie schon berichtet, haben manche Autoren gerade in neuerer Zeit nachgewiesen, daß die Stärke als spezifisches Substrat der Amylase nicht so kariogen ist wie einfache Zucker. Diese diffundieren schneller in die Plaques als die hochmolekulare Stärke und können hier sofort von den Säurebakterien weiter abgebaut werden.

Die Hypothese, daß je nach Aktivität der Amylase die Stärke und ihre Abbauprodukte mehr oder weniger lang in der Mundhöhle bzw. an den Prädilektionsstellen für Karies verweilen und damit die Säureproduktion der Bakterien beeinflussen, hat sich nach unseren Untersuchungen als nicht richtig erwiesen: Die Maltose als Abbauprodukt der Stärke ist in ihrer kariogenen Wirkung immer noch schwächer als Monosaccharide.

Die Amylasekonzentration des Speichels reicht nicht aus, irgend einen hemmenden Einfluß auf Bakterien oder Plaques auszuüben. Dagegen soll nach neueren Untersuchungen die exogene Zufuhr von hohen Amylasekonzentrationen in Form von Pasten oder Tabletten Beläge auflösen und sogar einen gewissen karieshemmenden Effekt erzielen, doch liegen hierüber noch keine gesicherten Ergebnisse am Menschen vor. Der im physiologischen Bereich vorliegenden Amylasekonzentration des Speichels kommt eine derartige Bedeutung nicht zu.

13. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 50 Versuchspersonen beiderlei Geschlechts wurde in einem Zeitraum von 8 Wochen die Aktivität der Speichelamylase mit Hilfe der WILLSTÄTTER-Methode gemessen. Das Alter der Versuchspersonen lag zwischen 20 und 25 Jahren.

Die Amylaseaktivität war bei jeder Versuchsperson an verschiedenen Tagen unterschiedlich. Die Schwankungsbreite dieser Werte war in den meisten Fällen geringfügig. Es wurde ein für jede Person kennzeichnender Durchschnittswert errechnet. Diese individuellen Amylaseaktivitätswerte waren ebenfalls nicht sehr unterschiedlich und im allgemeinen relativ hoch. Das kariöse Erscheinungsbild der Versuchspersonen wurde mit Hilfe des DMF-Index und des BOEDECKER-Index erfaßt. Bei Anwendung beider Indizes auf einen Einzelfall ließ sich in den wenigsten Fällen eine Entsprechung der Karieswerte erkennen.

Korrelationsstatistisch waren keine Zusammenhänge zwischen Amylaseaktivität einerseits und BOEDECKER-Index oder DMF-Index andererseits nachweisbar. Die Ergebnisse wurden unter Berücksichtigung der Literatur diskutiert.

Tabelle 1: Amylasewerte bei 50 untersuchten Versuchspersonen

Ifd.Nr. d.VP	Amylasewerte					Durchschnittswert aus 1.-3. Tag bzw. 1.-5. Tag
	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	
1	6,92	7,03	6,88			6,943
2	7,00	7,06	7,04	6,85	7,08	7,006
3	6,95	7,01	6,96			6,973
4	7,10	7,25	7,14			7,163
5	6,98	7,08	7,05			7,036
6	7,32	7,09	7,28	7,18	7,20	7,214
7	6,78	6,82	6,85			6,816
8	6,98	7,04	7,06			7,026
9	7,05	7,10	7,14			7,096
10	7,15	7,06	7,12			7,110
11	7,10	7,08	7,10			7,093
12	6,76	6,82	6,80			6,793
13	7,01	7,14	7,08	7,15	7,06	7,088
14	7,15	7,10	7,08			7,110
15	7,24	7,16	7,00			7,133
16	3,62	6,76	5,74			5,373
17	6,90	6,90	7,00			6,933
18	7,18	6,98	6,94			7,033
19	6,96	6,90	6,98	6,92	7,00	6,952
20	6,82	6,94	6,88			6,880
21	6,86	6,94	6,91			6,903
22	7,18	7,12	7,16			7,153
23	6,94	6,86	6,91			6,903
24	7,16	7,04	6,98			7,060
25	7,22	7,08	7,12			7,140
26	7,00	7,02	6,90			6,973
27	7,20	7,04	7,12	7,19	7,10	7,130
28	7,00	7,14	7,09			7,076
29	7,02	7,04	6,99			7,016
30	6,94	6,60	6,91			6,816
31	6,90	6,96	6,92			6,926
32	6,94	7,08	7,00			7,006
33	7,08	7,18	7,04			7,100

(Fortsetzung siehe umseitig)

Tabelle 1: Amylasewerte bei 50 untersuchten Versuchspersonen
(Fortsetzung)

Lfd.Nr. d.VP	Amylasewerte					Durchschnittswert aus 1.-3. Tag bzw. 1.-5. Tag
	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	
34	6,95	6,85	6,92			6,906
35	7,10	7,00	7,20			7,100
36	6,66	6,90	6,82			6,793
37	6,76	6,84	6,80			6,800
38	1,44	6,99	1,52	2,04	1,76	2,750
39	7,10	7,00	7,02			7,040
40	7,02	6,94	6,92			6,960
41	7,16	7,00	7,04			7,066
42	2,54	6,96	7,00	6,94	6,98	6,084
43	7,04	6,98	6,96			6,993
44	6,50	6,86	6,86	6,84	6,88	6,788
45	6,90	6,84	6,91			6,883
46	6,60	6,85	6,79			6,746
47	7,10	7,05	7,03			7,060
48	7,04	7,13	6,84	7,19	7,10	7,060
49	7,00	6,94	6,88			6,940
50	6,79	6,90	6,88	6,92	6,82	6,862

Tabelle 2: Ergebnisse der Kariesbestimmung

lfd.Nr.der Versuchspersonen	DMF-Index	BOEDECKER - Index
1	0	0
2	1	2
3	1	0
4	2	2
5	2	3
6	3	0
7	3	2
8	3	0
9	5	3
10	6	8
11	6	3
12	6	1
13	6	5
14	6	4
15	7	3
16	7	2
17	7	8
18	7	2
19	8	3
20	8	5
21	8	5
22	9	6
23	10	2
24	11	4
25	11	2
26	11	3
27	12	8
28	12	4
29	13	8
30	13	6
31	13	5
32	14	5
33	14	4
34	15	6

(Fortsetzung siehe umseitig)

Tabelle 2: Ergebnisse der Kariesbestimmung (Fortsetzung)

lfd.Nr.der Versuchspersonen	DMF-Index	BOEDECKER - Index
35	15	5
36	15	6
37	16	8
38	16	9
39	17	3
40	18	3
41	19	9
42	19	2
43	19	24
44	20	5
45	20	15
46	20	6
47	21	8
48	21	5
49	25	3
50	27	3

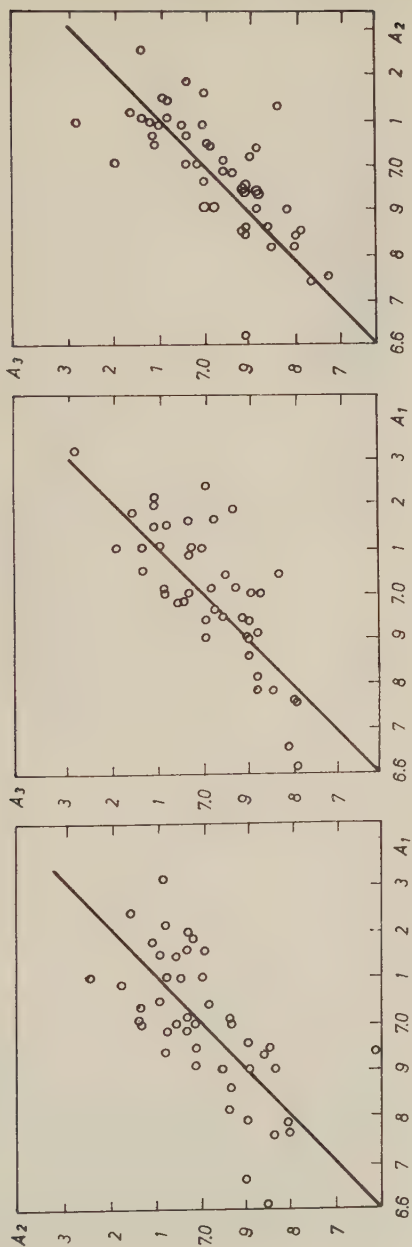


Abb. 1 Streuungsdiagramm
 der Ergebnisse von 3 Amylasebestimmungen (A_1, A_2, A_3)
 und zwar von 1. und 2.
 1. und 3.
 sowie 2. und 3. Amylasebestimmung bei jeweils gleicher Versuchsperson
 eingezeichnet wurde die 45° Linie.

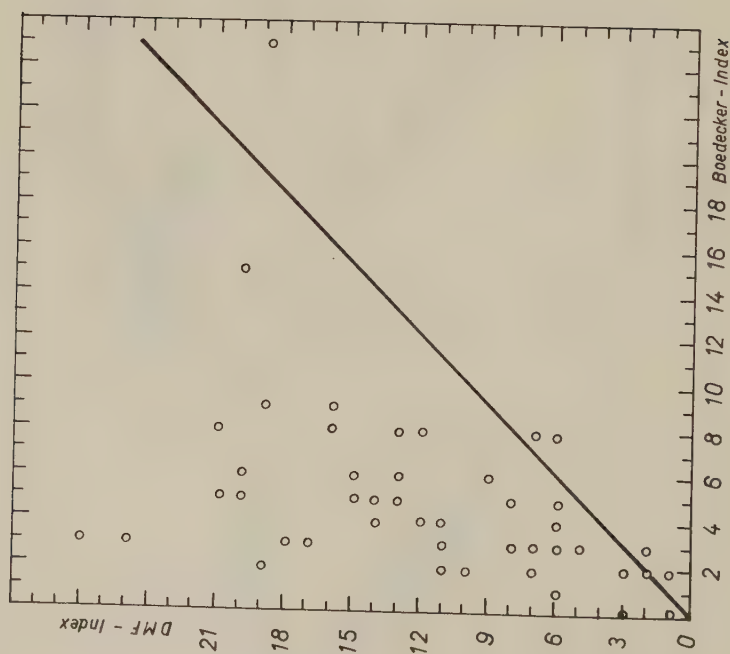
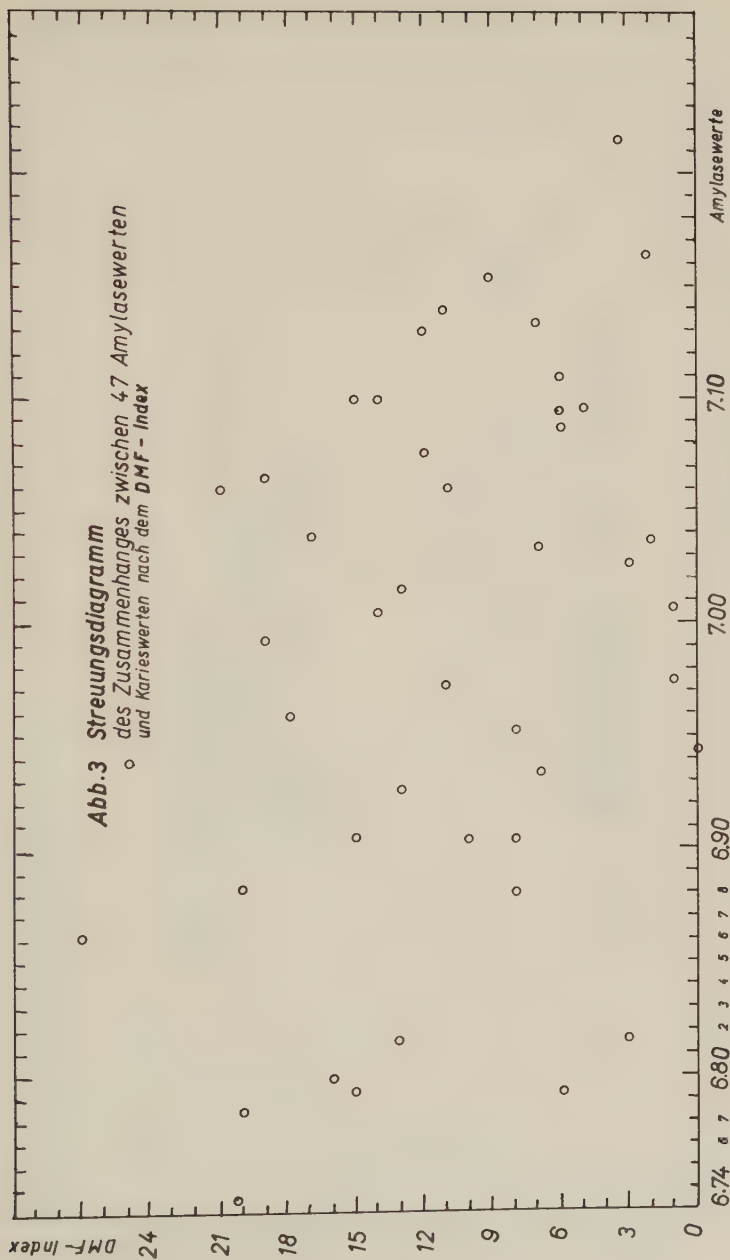
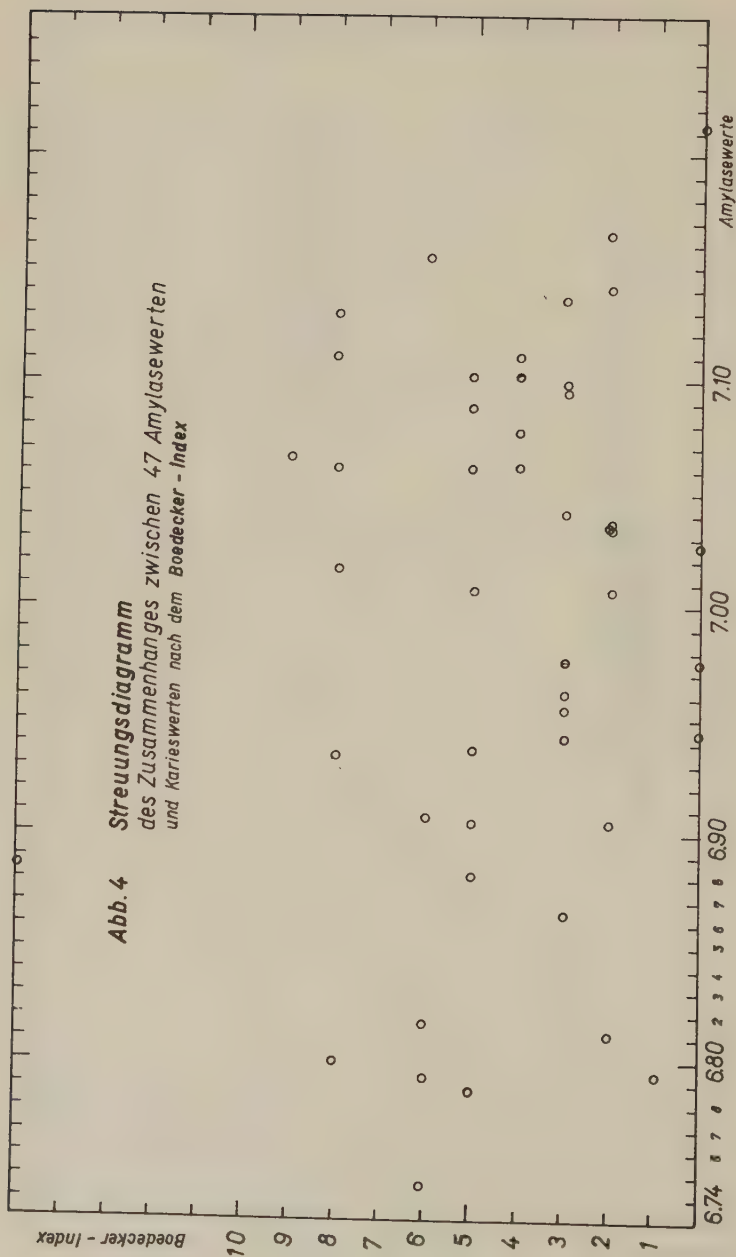
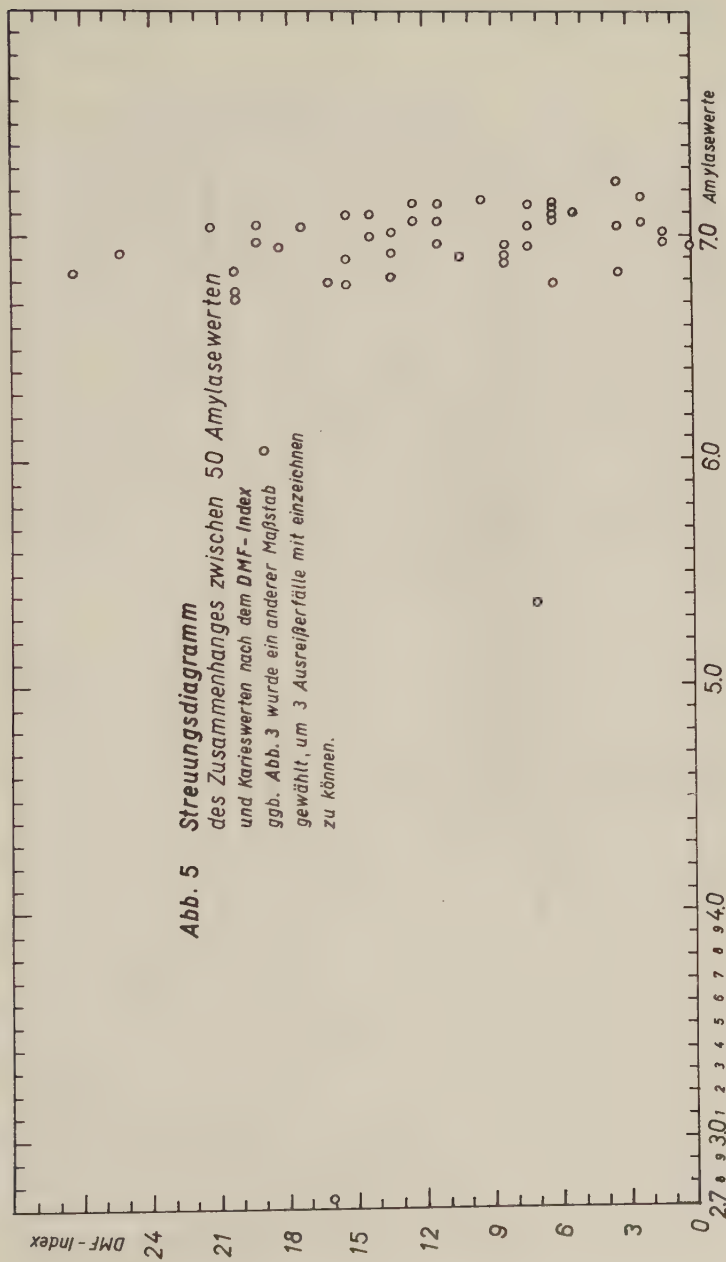
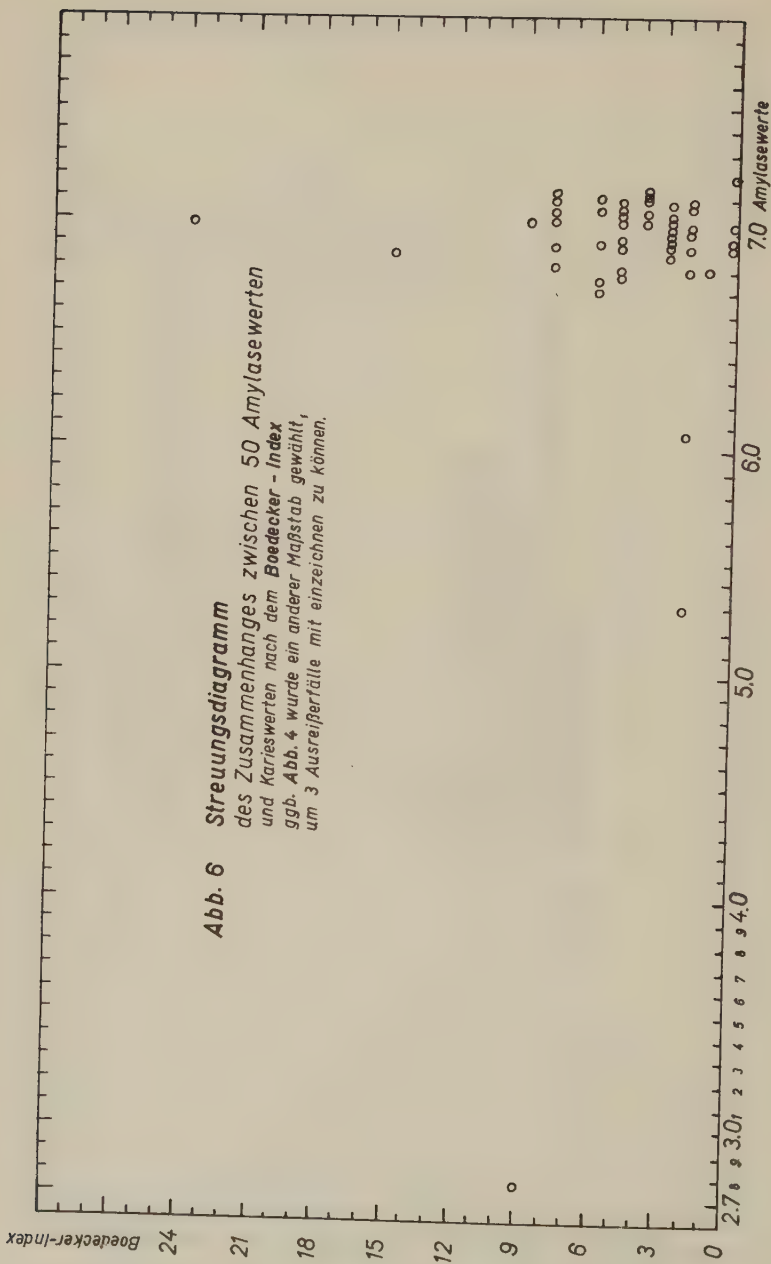


Abb. 2 Streudiagramm
 der Karieswerte nach dem
 DMF- und Boedecker-Index
 eingezeichnet wurde die 45° Linie.









14. LITERATURANGABEN

- AEBI, H.: Einführung in die praktische Biochemie.
Akad. Verlagsges. Frankfurt 1965, S. 126
- BARANY, F.: Resistance to Caries in Relation to Certain Properties of Saliva. *Acta med. Scand.* 127, 370 (1947)
- BECKS, H.: The Physical Consistency of Food and Refined Carbohydrate Restrictions - Their Effect on Caries.
J. dent. Res. 27, 405 (1948)
- BERGHEIM, O. und BARNFIELD, W. F.: Lack of Correlation Between Dental Caries and Salivary Amylase. *J. dent. Res.* 24, 141 (1945)
- BIBBY, B. G.: Diskussion in: The Effectiveness of Dentifrices Mouthwashes and Ammonia - Urea Compounds in the Control of Dental Caries.
Von KESEL, R. G. J. *dent. Res.* 27, 256 (1948)
- BIBBY, B. G.: Saliva and Dental Caries, in: MUHLER, J. C. and HINE, M. K. Ed.: A Symposium on Preventive Dentistry, St. Louis 1956, S. 81
- BLACK, G. V.: Konservierende Zahnheilkunde, Band 1, Berlin, Meüßer, 1914, S. 129, 151
- BOEDECKER, Ch. F.: The Modified Dental Caries Index.
J. Am. dent. Ass. 26, 1453 (1939)
- BOWEN, W. H. und EASTOE, J. E.: The Effect of Sugar. Solutions Containing Various Jons on the pH of Plaque in Monkeys.
In: Abstracts of Papers. Orca Congress, 6.-8. VI. Perugia 1966, S. 15
- BRAMSTEDT, F.: Karies und Kohlenhydrate, in: Zusammenhang zwischen Ernährung und Zahnkaries. Vorträge des Symposiums in der Universität Zürich, 16.-18. X. 1962, Basel - New York 1964, S. 1
- BRAMSTEDT, F.: Neuere Untersuchungen über die Bedeutung der Kohlenhydrate in der Kariesätiologie. *Dtsch. Zahnärztl. Zschr.* 20, 505 (1965)
- BUHS, A.: Zahnkaries, Speichel und Schwangerschaft.
Leipzig, Barth, 1959, S. 89, 96
- BURKETT, L. W.: The Accuracy of Clinical and Roentgenologic Diagnosis of Dental Caries as Determined by Microscopic Studies.
J. dent. Res. 20, 71 (1941)
- CHITTENDEN, R. H. und RICHARDS, A. N.: Variations in the Amyolytic and Chemical Composition of Human Mixed Saliva.
Amer. J. of Physiol. 1, 462 (1898)
- DAY, C. D. M.: Amyolytic Enzyme of Saliva in Relation to Dental Caries.
J. dent. Res. 14, 213 und *Dent. Cosmos* 76, 683 (1934)

- DAY, C.D.M. und SEDWICK, H.D.: Studies on the Incidence of Dental Caries.
- DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen. Basel 1960, S.61
- EGGERS-LURA, H.: Enzyme des Speichels und der Zähne, in: Zahnheilkunde in Einzeldarstellungen. München, Hanser, 1949, S.22, 31
- EGGERS-LURA, H.: The Effect of High Concentrations of Sacrose on Glykolyysis within the Dental Plaque and on Caries Activity.
In: Abstracts of Paper. Orca Congress, 6.-8.VI. Perugia 1966, S.69
- ELVEHJEM, C.A.: A Nutritionit's View of the Caries Problem.
J.Amer.dent.Ass. 37, 410 (1948)
- ERICSSON, Y.: One the Salivary Amylase and its Significance in the Caries Process. Acta odont.Scand. 9, 90 (1951)
- ERICSSON, Y., HELLSTRÖM, I., JARED, B. und STJERNSTRÖM, L.: Investigations into the Relationship between Saliva and Dental Caries. Acta odont.Scand. 11, 179 (1954)
- FLORESTANO, H.J., FABER, J.E. und JAMES, L.H.: Studies on the Relation between the Diastatic Activity of Saliva and Incidence of Dental Caries. J:Am.dent.Ass. 28, 1799 (1941)
- FOLIN, O. und WU, H.: A System of Blood Analysis; Simplified and Improved Method for the Determination of Sugar.
J.Biol.Chem. 41, 367 (1920)
- FOSDICK, L.S. und RAPP, G.W.: The Effect of Amylolytic Enzymes on Acid Production in Saliva. J.dent.Res. 23, 85 (1944)
- FROSTELL, G.: Substitution of Fermentable Sugars in Sweets,
in: BLIX, G.: Nutrition and Caries Provention, Stockholm, Almqvist und Wicksell, 1965, S.60
- GORE, J.T.: Saliva and Enamel Decalcification. III.Autolysis.
J.dent.Res. 17, 411 (1938)
- GRENBY, T.H.: Investigations in Experimental Animals on the Cariogenicity of Diets Containing Sucrose and/or Starch. In: Abstracts of Papers; Orca Congress 6.-8.VI. Perugia, 1966, S.53
- HENDERSON und MILLET: On the Hydrogen Jon Determination of Normal Saliva. J.Biol.Chem. 75, 559 (1927)
- HESS, W.C. and SMITH, B.T.: The Salivary Amylase Activity of Carious and Noncarious Individuals. J.dent.Res. 27, 593 (1948)
- HOFBAUER, L.: Tägliche Schwankungen der Eigenschaften des Speichels. Archiv f.d.Ges.Physiol. 65, 503 (1897)
- HUBBEL, R.B.: The Chemical Composition of Saliva and Blood Serum of Children in Relation to Dental Caries. Am.J.Physiol.105, 436 (1933)

- KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Stuttgart, Thieme, 1964, S.272
- KESEL, R.G.: Dental Caries: Etiology, Control and Activity Tests.
J. Am. dent. Ass. 30, 25 (1943)
- KESSLER, D.: Oberflächenhistologische Untersuchungen des Zahnschmelzes unter der Einwirkung von Fluoriden und Enzymen.
Med.Diss. Mainz 1966
- KIRK, E.C.: The Etiology of Dental Caries. Dent.Cosmos 41, 1448 (1909)
- KÖNIG, K.: Möglichkeiten der Kariesprophylaxe beim Menschen und ihre Untersuchung im kurzfristigen Rattenexperiment.
Bern - Stuttgart, Huber, 1966, S.13, 18, 27, 31, 98
- LAMMERS, Th. und HAFFER, H.: Biologie der Zahnkaries.
Heidelberg, Hütig, 1956, S.135, 136
- LANDOIS-ROSEMAN, H.V.: Lehrbuch der Physiologie des Menschen.
München, Berlin, Urban - Schwarzenberg, 1962, S.238
- LEUCHS, E.F.: Wirkung des Speichels auf Stärke.
Poggendorfs Annalen d. Physik u. Chemie, Bd.22 (1831) S.623
- LEUTHART, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie.
Berlin, de Gruyter, 1963, S.533
- MARTHALER, T.M.: Epidemiological and Clinical Dental Findings in Relation to Intake of Carbohydrates. In: Abstracts of Papers, Orca Congress 6.-8.VI. Perugia, 1966, S.72
- MATHEWS, A.P.: Physiological Chemistry. 5th Ed. Baltimore, Wood, 1931
- MELLENBY, M.: Diet and the Teeth: An Experimental Study Part III. The Effect of Diet on Dental Structure and Disease, in: Man. Brit. Res. Council, Spez. Rep. No 191, London 1930
- MEYER, K.H.: Kurze zusammenfassende Darstellung des Stärkeabbaus.
Zschr. Angew. Chemie 63, 153 (1951)
- MICHAELIS, L. und PECHSTEIN, H.: Wirkungsbedingungen der Speicheldiastase. Biochem. Zschr. 59, 77 (1914)
- MICHEL, M.: The Fermentative Action of the Saliva and its Relation to Dental Caries. Dent.Cosmos 57, 943 (1915)
- MILLER, W.D.: Die Mikroorganismen der Mundhöhle.
Thieme, Leipzig 1889, S.133
- MILLER, W.D.: New Theories Concerning Decay of Teeth.
Dent.Cosmos 47, 1293 (1905)
- MUER, M.: Die Bedeutung der Amylase der Mundhöhle für ihre Bakterienflora. Med.Diss. Mainz 1958

- MYERS, V.C. und DELLENBAUGH, A.G.: Studies on the Amylolytic Activity of Saliva with a New Method.
Proc.Soc.Exp.Biol. and Med. 16, 18 (1918)
- MYRBÄCK, K.: Enzymatische Katalyse. Berlin, de Gruyter, 1953, S.52, 53
- NEILSON, C.H. und TERRY, O.P.: The Adaption of the Salivary Secretion to Diet. Am.J.of Physiol. 15, 406 (1905)
- ÖLSNER, K.: Über Beziehungen von Rhodan und Diastase des Speichels zur Karies. Med.Diss. Breslau 1930
- ORLAND, F.J., BLANEY, J.R., HARRISON, R.W., REYNIERS, J.A., TREXLER, P.C., WAGNER, M., GORDON, H.A. und LUCKEY, T.D.: Use of the Germ free Animal Technic in the Study of Experimental Dental Caries I. Basic Observations on Rats Reared Free of All Microorganisms. J.dent.Res. 33, 147 (1954)
- ORLAND, F.J., BLAYNEY, J.R., HARRISON, R.W., REYNIERS, J.A., TREXLER, P.C., ERVIN, R.F., GORDON, M.A. und WAGNER, M.: Experimental Caries in Germfree rats inoculated with Enterococci. J.Am.dent.Ass. 50, 259 (1955)
- PAYEN, MM. und PERSOZ: Mémoire sur la Diastase, les principaux Produits de ses Réactions, et leurs applications aux arts industriels. Ann.Chim.Phys. 53, 73 (1833)
- PICKERILL, H.P.: A Note on the Etiologie of Caries of the Teeth. New Zealand M.J. 23, 485 (1924)
- PRADER, F.: Die experimentelle Kleintierkaries und die Brotfrage. Schw.Mschr.Zahnhlk. 65, 9, 865 (1955)
- PRADER, F.: Der Brotabbau durch menschlichen Speichel. Schw.Mschr.Zahnhlk. 66, 210 (1956)
- PRATT, J. und EISENBRANDT, L.C.: A Colorimetric Method for the Determination of Amylolysis of Saliva. J.dent.Res. 23, 267 (1944)
- PRINZ, H.: The Relationship of oral Secretions to dental Caries. Dent.Cosmos 60, 197 (1918)
- PURJESZ, B.: Über den Ptyaliningehalt des Speichels. Wien, klin.Wschr. 26, 1307 (1913)
- REIN-SCHNEIDER: Physiologie des Menschen. Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer, 1964, S.281, 282
- RIETHE, P. und ZILZ, W.: Die Abhängigkeit der Kariogenizität von Diäten und Mundpflegemitteln im Tierexperiment. In: Abstracts of Papers; Orca Congress 6.-8.VI. Perugia, 1966, S.83
- SCHIEFERDECKER, H.: Tagesschwankungen des Speichel - pH - Wertes bei täglich viermaliger Untersuchung des eigenen Speichels während eines Monats. Med.Diss. Tübingen 1937

- SCHÜTZ, E.: Physiologie. München, Berlin, Urban - Schwarzenberg, 1963, S.106
- SHERMANN, H.C., THOMAS, A.W., BALDWIN, M.W.: Influence of Hydrogen - Ion Concentration upon Enzymic. J.Am.chem.Soc. 41, 231 (1918)
- SOGNNAES, R.F.: The Importance of a Detailed Clinical Examination of Carious Lesions. J.dent.Res. 19, 11 (1940)
- SÖRENSEN, S.P.L.: Über die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionen-konzentration bei biologischen Prozessen. Ergebn.Physiol. 12, 393 (1912)
- STEPHAN, R.M. und MILLER, B.F.: The Effect of Synthetic Detergents on pH Changes in Dental Plaques. J.dent.Res. 22, 53 (1943)
- STRALFORS, A.: Studies of the Microbiology of Caries. III. The Buffer Capacity of the Dental Plaques. J.dent.Res. 27, 587 (1948)
- SULLIVAN, J.H. und STORVICK, C.A.: Statistical Interpretation of Salivary Analyses on 555 School-children in two Geographic Regions in Oregon. J.dent.Res. 29, 173 (1950)
- TURNER, N.C.: Amylase Inhibition Action. J.dent.Res. 43, 1260 (1964)
- TURNER, N.C. and CRANE, E.M.: A Relationship between Dental Caries and Saliva. J.dent.Res. 23, 413 (1944)
- TURNER, N.C. und CROWELL, C.E.: Effect of Temperature upon the Dextrinization of Starch by Salivary Enzymes. J.dent.Res. 31, 359 (1952)
- TÜRKHEIM, H.: Kariesforschung, in: MISCH, J.: Die Fortschritte der Zahnheilkunde, Bd.I, 1925, S.94
- WILLIAMS, J.C.: A Contribution to the Study of Pathology of the Enamel. Dent.Cosmos 39, 169, 269, 353 (1897)
- WILLSTÄTTER, R., WALDSCHMIDT-LEITZ, E. und HESSE, A.R.F.: Über Pankreasamylase (III. Abhandlung über Pankreasenzyme). Zschr.f.physiol.Chem. 126, 143 (1923)
- WINKLER, K.C. und BACKER DIRKS, O.: The Mechanism of the Dental Plaque. Intern.dent.J. 8, 561 (1958)
- WOHLGEMUTH, J.: Beitrag zur funktionellen Diagnostik des Pankreas. Berlin, klin.Wschr. 47, 92 (1910)
- ZILZ, K.W.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über zahnstein-hemmende Substanzen. Med.Diss. Mainz 1965

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr.Dr.P.Rie the
für die Überlassung des Themas und für seine großzügige Un-
terstützung meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Herrn Dr.La n g e vom Institut für Medizinische Statistik und
Dokumentation der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr.Dr.S.Ko l l e r) danke ich für die
freundliche Hilfe bei der statistischen Auswertung.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Oberstudiendirektors Dr.Konrad Kraus und seiner Ehefrau Dr.Erika Kraus, geb.Kempter, wurde ich am 14.4.1942 in Darmstadt geboren.

1944 wurden wir in Darmstadt total ausgebombt und noch im selben Jahre in den Odenwald evakuiert. 1949 zogen wir nach Offenbach (Main), wo ich die Volksschule und anschließend den humanistischen Zweig des Leibniz - Gymnasiums besuchte. 1962 erhielt ich das Zeugnis der Reife.

Nach einem Semester an der Goethe-Universität in Frankfurt habe ich das vorklinische Studium der Zahnheilkunde nach insgesamt 5 Semestern in Mainz abgeschlossen. Nach dem ersten klinischen Semester in München studierte ich in Mainz weiter und beendete das Studium an der gleichen Universität im November 1967 mit dem Staatsexamen.

Seit Februar 1968 leiste ich meinen 18-monatigen Wehrdienst bei der Bundeswehr als Stabsarzt ab.

